



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **127738** (13) **C2**
(51) МПК (2023.01)
C07D 405/12 (2006.01)
A61P 29/00
A61P 25/00
A61K 31/4178 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

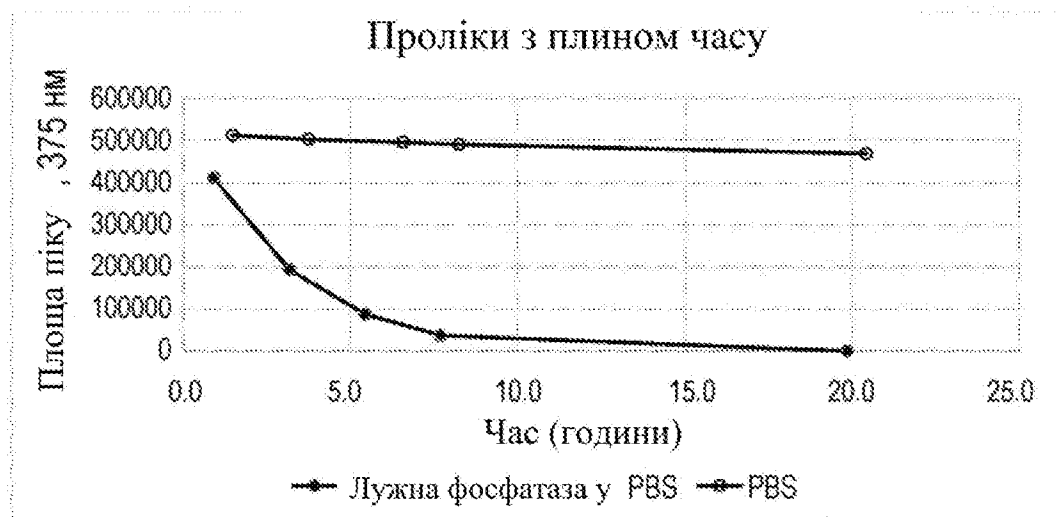
<p>(21) Номер заявки: a 2020 02979</p> <p>(22) Дата подання заявки: 19.10.2018</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 21.12.2023</p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 62/575,124, 62/674,422</p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 20.10.2017, 21.05.2018</p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: US, US</p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: 10.09.2020, Бюл.№ 17</p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 20.12.2023, Бюл.№ 51</p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/US2018/056713, 19.10.2018</p>	<p>(72) Винахідник(и): Уескотт Чарльз (US), Гепнер Едріан (US), Ларсон Алісса (US)</p> <p>(73) Володілець (володільці): ІГЛ РІСЕРЧ ЛЕБС ЛІМІТЕД, 93, Mill Street Qormi, QRM 3102, Malta (MT)</p> <p>(74) Представник: Петров Андрій Володимирович, реєстр. №139</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WESSELS F L ET AL, "Synthesis and skeletal muscle relaxant activity of 3-(aminoacyl)-1-[[[5-(substituted phenyl)-2-furanyl]methylene]amino]-2,4-imidazolidinediones", DISSOLUTION PROFILE OF NOVEL COMPOSITE PELLET CORES BASED ON DIFFERENT RATIOS OF MICROCRYSTALLINE CELLULOSE AND ISOMALT, JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, VOL. 101, NR. 8, PAGE(S) 2675-2680, (19810901), vol. 70, no. 9, doi:10.1002/JPS.2600700933, ISSN 0022-3549, pages 1088 - 1090 SNYDER H R ET AL, "1-[(5-arylfurfurylidene)amino]hydantoin. A new class of muscle relaxants", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, (19670901), vol. 10, doi:10.1021/JM00317A011, ISSN 0022-2623, pages 807 - 809</p>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

(54) ПРОЛІКИ ДАНТРОЛЕНУ І СПОСОБИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

(57) Реферат:

Винахід стосується проліків дантролену, їх композицій і способів їх застосування для лікування захворювання.

UA 127738 C2



Фіг. 1

ПЕРЕХРЕСНЕ ПОСИЛАННЯ НА СПОРІДНЕНІ ЗАЯВКИ

Даною заявкою запитується пріоритет за попередньою заявкою США № 62/575124, поданою 20 жовтня 2017 року, і попередньою заявкою США № 62/674422, поданою 21 травня 2018 року, зміст якої включений в даний опис як посилання.

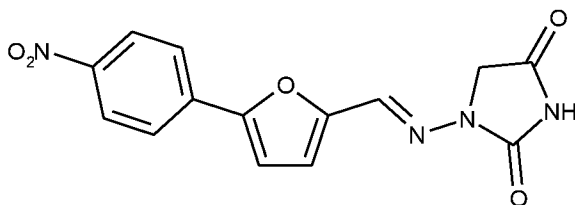
5 ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ

Винахід стосується проліків дантролену, їх композицій і способів їх застосування для лікування захворювання.

РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

10 Проліки, як правило, є альтернативними формами активних лікарських засобів, зворотно модифікованими або дериватизованими хімічною групою, яка робить проліки неактивними або забезпечує розчинність, стабільність або біодоступність, або змінює деяку іншу властивість активної лікарської речовини. Як правило, хімічна група проліків відщеплюється від проліків під дією нагрівання, кавітації, тиску, зміни рН, відновлення-окиснення, і/або ферментативної активності, яка діє на проліки, тим самим вивільняючи активний лікарський засіб. Відщеплення хімічної групи проліків може відбуватися до доставки лікарського засобу індивідууму, але, як правило, воно відбувається *in vivo* за допомогою ферментативних процесів у індивідуума.

15 Дантролен (1-[[5-(4-нітрофеніл)-2-фурил]метиліденаміно]імідазолідин-2,4-діон), має структуру формули (1):



20

Дантролен є переважним для вибору засобом порятунку при лікуванні злоякісної гіпертермії («МН»), і він широко доступний в більшості регіонів, в які постачаються анестетики. Уперше синтезований в 1967 році, дантролен спочатку використовували для лікування м'язових спазмів 25 1975 року, і пізніше в 1979 році він отримав схвалення FDA для лікування МН. Дантролен визнаний як потужний м'язовий релаксант і як засіб для лікування нервової спастичності. З його первинного відкриття дантролен був досліджений для профілактики і лікування інших станів, які загрожують життю, таких як передозування рекреаційних наркотиків, таких як «екстазі» (N-метил-3,4-метилендіоксифенілізопропіламін), тепловий удар, злоякісний нейролептичний синдром і ішемічне пошкодження периферичної нервової системи, і він може бути важливим для профілактики синдрому раптової дитячої смерті (SIDS).

30 Дантролен дуже слабо розчинний у воді. Слабка розчинність дантролену значно впливає на його введення. Наприклад, DANTRIUM™ являє собою дантролен натрій, що надається в 20-мг флаконах, який повинен бути розбавлений 60 мл стерильної води перед внутрішньовенним введенням. Рекомендована доза дантролену для лікування МН становить від 1 мг/кг до 35 приблизно 10 мг/кг. По суті, індивідууму масою 80 кг може бути потрібна швидка інфузія аж до 2400 мл для лікування МН.

На доповнення до його слабкої розчинності, розчини дантролену мають високе значення рН. рН DANTRIUM™ становить приблизно 9,5. RYANODEX®, вдосконалений склад дантролену натрію, який можна розбавляти до 50 мг/мл, значно поліпшує швидкість, з якою можна вводити дантролен натрій. Однак розбавлений RYANODEX® також має високе значення рН - приблизно 40 10,3. Внаслідок їх високих значень рН сучасні склади дантролену не можна вводити підшкірно або внутрішньом'язово – тільки внутрішньовенно. Дійсно, необхідно попереджати екстравазацію в навколишні тканини для уникнення некрозу тканин.

45 Хоча проліки дантролену можуть бути корисними для вирішення проблем із розчинністю лікарського засобу і рН, ідентифікація придатної пролікарської частини ускладнена кількома факторами, властивими молекулі дантролену. Наприклад, передбачається, що низька розчинність дантролену пов'язана з його широкою ароматичною системою, яка може залучатися до гідрофобної пі-стекинг поведінки. Навіть заряджена нітрочастина дантролену не 50 може підвищити розчинність сполуки у воді.

Дантролен включає гідантоїнову частину, яка присутня в інших фармацевтичних сполуках, наприклад, таких як фенітоїн. Однак, в той час як описані стратегії для підвищення розчинності у воді проліків у вигляді інших гідантоїн-вмісних сполук, незрозуміло, чи можна схожі стратегії успішно використовувати для дантролену, враховуючи його унікальну хімічну структуру і фізичні

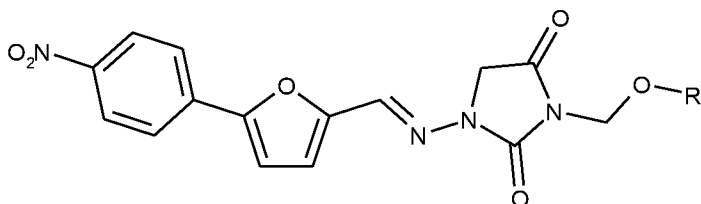
властивості.

Існує потреба в нових складах дантролену, які мають придатну концентрацію і рН, які роблять їх придатними для внутрішньом'язового або підшкірного застосування, а також перорального, трансмукозального (наприклад, інтраназального) і внутрішньокісткового введення.

5

СУТЬ ВИНАХОДУ

Винахід стосується сполук формули I



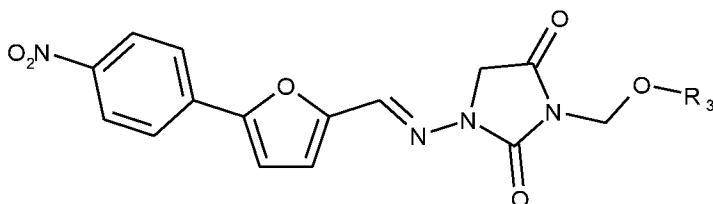
I,

10

де R являє собою -P(O)(OH)₂ або -P(O)(OR₁)(OR₂); R₁ являє собою H, -C₁₋₂₆алкіл, арил, C₁₋₆алкC(O)O-C₁₋₂₆алкіл, -C₁алкOC(O)C₁₋₂₆алкіл або C₁алкOC(O)OC₁₋₂₆алкіл; і R₂ являє собою -C₁₋₂₆алкіл, арил, C₁₋₆алкC(O)O-C₁₋₂₆алкіл, -C₁алкOC(O)C₁₋₂₆алкіл або C₁алкOC(O)OC₁₋₂₆алкіл, а також їх фармацевтично прийнятних солей. Також описані фармацевтичні композиції, які містять сполуку формули I, а також способи їх застосування.

15

Також винахід стосується сполук формули II



II.

20

де R₃ являє собою H, -C(O)-Z-N(R₄)(R₅), -C(O)Z-C(O)-OH або -C(O)-NH-Y-CH₂-OC(O)-Z-C(O)-OH; Z являє собою C₁₋₆алк; Y являє собою арилен; C₁₋₆алкіл; R₅ являє собою H або C₁₋₆алкіл; або R₄ і R₅, разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, утворюють гетероциклоалкіл; а також їх фармацевтично прийнятних солей. Також описані фармацевтичні композиції, які містять сполуку формули II, а також способи їх застосування.

25

КОРОТКИЙ ОПИС КРЕСЛЕНЬ

На фіг. 1 представлена площа піку з плином часу для конвертування проліків за винаходом у дантролен лужною фосфатазою при 25°C.

На фіг. 2 представлена площа піку з плином часу для конвертування проліків за винаходом (2a) у дантролен лужною фосфатазою при 25°C.

30

На фіг. 3 представлена площа піку з плином часу для конвертування проліків за винаходом у дантролен у плазмі щура при 22°C.

На фіг. 4 представлена площа піку з плином часу для конвертування проліків за винаходом у дантролен у плазмі щура при 37°C.

35

На фіг. 5 представлено конвертування сполуки 2a у дантролен в плазмі щура. Плазму щура інкубували з 100 мкг/мл сполуки 2a при 37°C. Площа під піками проліків і дантролену на хроматограмах, отриманих при 385 нм, нанесена на графік проти часу реакції. Кола відповідають пролікам. Трикутники відповідають дантролену.

На фіг. 6 представлена середня концентрація дантролену в плазмі щура від тварин, яким дозували 7,5 мг/кг проліків 2a (n=5±SEM (стандартна помилка середнього значення)). Кількісне визначення з поглинання при 385 нм.

40

На фіг. 7 представлена середня концентрація дантролену в цільній крові щура від тварин, яким вводили 7,5 мг/кг проліків 2a (n=3). Кількісне визначення з поглинання при 385 нм.

На фіг. 8 представлена середня концентрація дантролену в плазмі щура від тварин, яким дозували 7,5 мг/кг проліків 2a (n=5 ± SEM). Кількісне визначення з поглинання при 385 нм.

45

На фіг. 9 представлена середня концентрація дантролену в цільній крові щура від тварин, яким дозували 7,5 мг/кг проліків 2a (n=5 ± SEM). Кількісне визначення з поглинання при 385 нм.

На фіг. 10 представлено конвертування сполуки 2b у дантролен у плазмі щура. Плазму щура інкубували зі 100 мкг/мл сполуки 2b при 37°C. Площа під піками проліків і дантролену на

хроматограмах, отриманих при 385 нм, нанесена на графік проти часу реакції. Кола відповідають пролікам. Трикутники відповідають дантролену.

На фіг. 11 представлена середня концентрація дантролену в плазмі щура від тварин, яким дозували 10,6 мг/кг 2b ($n=5 \pm \text{SEM}$). Кількісне визначення з поглинання при 385 нм.

5 На фіг. 12 представлено конвертування 10с у дантролен в плазмі щура. Плазму щура інкубували зі 100 мкг/мл сполуки 10с при 37°C. Площа під піками проліків і дантролену на хроматограмах, отриманих при 385 нм, нанесена на графік проти часу реакції. Кола відповідають пролікам. Трикутники відповідають дантролену.

10 На фіг. 13 представлено конвертування 12а у дантролен у плазмі щура. Плазму щура інкубували з 100 мкг/мл 12а при 37°C. Площа під піками проліків і дантролену на хроматограмах, отриманих при 385 нм, нанесена на графік проти часу реакції. Кола відповідають пролікам. Трикутники відповідають дантролену.

На фіг. 14 представлена середня концентрація дантролену у цільній крові від тварин, яким дозували 4 мг/кг проліків 12а ($n=3 \pm \text{SEM}$). Кількісне визначення з поглинання при 385 нм.

15 На фіг. 15 представлена версія конвертування 17b у дантролен в плазмі щура. Плазму щура інкубували зі 100 мкг/мл 17b при 37°C. Площа під піками проліків і дантролену на хроматограмах, отриманих при 385 нм, нанесена на графік проти часу реакції. Кола відповідають пролікам. Трикутники відповідають дантролену.

20 На фіг. 16 представлено конвертування 22с у дантролен в плазмі щура. Плазму щура інкубували зі 100 мкг/мл 22с при 37°C. Площа під піками проліків і дантролену на хроматограмах, отриманих при 385 нм, нанесена на графік проти часу реакції. Кола відповідають пролікам. Трикутники відповідають дантролену.

На фіг. 17 представлена середня концентрація дантролену в цільній крові від тварин, яким дозували 4 мг/кг проліків 22с ($n=3 \pm \text{SEM}$). Кількісне визначення з поглинання при 385 нм.

25 **ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС ІЛЮСТРАТИВНИХ ВАРІАНТІВ ЗДІЙСНЕННЯ**

Даний винахід може стати більш зрозумілим за допомогою наведеного нижче детального опису спільно з прикладеними кресленнями і прикладами, які формують частину даного винаходу. Потрібно розуміти, що даний винахід не обмежується конкретними композиціями, пристроями, способами, застосуваннями, умовами або параметрами, описаними і/або представленими в даному описі, і що термінологія, яка використовується в даному описі, призначена для опису конкретних варіантів здійснення тільки за допомогою прикладу і не призначена для обмеження заявленого винаходу.

30 Як використовують в описі, зокрема в прикладеній формулі винаходу, форма однини включає форму множини, і вказівка на конкретну числову величину включає щонайменше цю конкретну величину, якщо контекст явно не вказує на інше.

35 Коли наведений діапазон величин, ілюстративний варіант здійснення включає діапазон від однієї конкретної величини і/або до іншої конкретної величини. Всі діапазони є інклюзивними і комбінованими. Крім того, вказівка на величини, вказані в діапазонах, включає кожну величину в цьому діапазоні. Коли величини виражені у вигляді наближених значень із використанням попереднього слова «приблизно», буде зрозуміло, що ця конкретна величина становить інший варіант здійснення. Термін «приблизно», як використовують в рамках винаходу, при вказівці на величину, що піддається вимірюванню, таку як кількість, період часу і т. п., охоплює прийнятне коливання даної величини, наприклад, таке як $\pm 10\%$, від вказаної величини. Наприклад, вираз «приблизно 50%» може включати $\pm 10\%$ від 50, або від 45% до 55%, включаючи 50%.

40 45 Повинно бути зрозуміло, що певні ознаки винаходу, які для ясності описані в даному описі в контексті окремих варіантів здійснення, також можуть бути надані в комбінації в одному варіанті здійснення. Навпаки, різні ознаки винаходу, які скорочено описані в контексті одного варіанта здійснення, також можуть бути надані окремо або в будь-якій підкомбінації.

50 Як використовують у межах винаходу, як само по собі, так і спільно з іншим терміном або термінами, потрібно розуміти, що вираз «спосіб проведення лікування» і «спосіб лікування» можуть використовуватися взаємозамінно з виразом «для застосування для лікування» конкретного захворювання.

55 Як використовують у межах винаходу, як само по собі, так і спільно з іншим терміном або термінами, «фармацевтично прийнятний» вказує на те, що об'єкт, що вказується, наприклад, такий як фармацевтично прийнятний ексципієнт, є в основному хімічно і/або фізично сумісним з іншими інгредієнтами в композиції, і/або загалом фізіологічно сумісним із його реципієнтом.

Як використовують у межах винаходу, «фармацевтична композиція» стосується композиції, отриманої шляхом комбінування будь-якого зі складів, включаючи суспензії, або дисперсій, описаних в даному описі, з одним або кількома фармацевтично прийнятними ексципієнтами.

60 «Фармацевтично прийнятний ексципієнт» стосується розріджувача, ад'юванта, ексципієнта

або носія, з яким вводять сполуку за винаходом. «Фармацевтично прийнятний ексципієнт» стосується речовини, яка є нетоксичною, біологічно переносимою і іншим чином біологічно придатною для введення індивідууму, такого як інертна речовина, що додається в фармакологічну композицію або іншим чином використовується як наповнювач, носій або розріджувач для полегшення введення засобу, і яка сумісна з ним. Приклади ексципієнтів наведені, наприклад, в Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Co. (1985).

Як використовують у межах винаходу, як само по собі, так і спільно з іншим терміном або термінами, «суб'єкт(и)», «індивідуум(и)» і «пацієнт(и)» стосуються ссавців, зокрема – людини. Термін людина(люди) стосується і включає людську дитину, підлітка або дорослого.

Як використовують у межах винаходу, як само по собі, так і спільно з іншим терміном або термінами, «лікувати», «що лікує», «підданий лікуванню» і «лікування» стосуються і включають застосування для пом'якшення, тимчасового полегшення і/або лікування, або будь-яку їх комбінацію, або його результат. У інших варіантах здійснення способи, описані в даному описі, можна використовувати профілактично. Потрібно розуміти, що «профілактика» або профілактичне застосування або результат не стосуються і не вимагають абсолютного або повного попередження (тобто 100% превентивне або захисне застосування або результат). Як використовують у межах винаходу, профілактика або профілактичне застосування або результат стосуються застосувань і результатів, при яких введення сполуки або композиції зменшує або знижує тяжкість конкретного стану, симптому, порушення або захворювання, описаного в даному описі; зменшує або знижує імовірність бути підданим конкретному стану, симптому, порушенню або захворюванню, описаному в даному описі; або сповільнює виникнення або рецидив (повторне виникнення) конкретного стану, симптому, порушення або захворювання, описаного в даному описі; або будь-якої комбінації вищезгаданих.

Як використовують у межах винаходу, як само по собі, так і спільно з іншим терміном або термінами, «терапевтичний» і «терапевтично ефективна кількість» стосуються кількості сполуки або композиції, що (а) лікує конкретний стан, симптом, порушення або захворювання, описаний в даному описі; (b) послаблює, пом'якшує або усуває один або кілька симптомів конкретного стану, порушення або захворювання, описаного в даному описі; (c) сповільнює виникнення або рецидив (повторне виникнення) конкретного стану, симптому, порушення або захворювання, описаного в даному описі. Потрібно розуміти, що терміни «терапевтичний» і «терапевтично ефективний» охоплюють будь-який з вищезазначених ефектів (a)-(c), або окремо, або в комбінації з будь-яким з інших (a)-(c).

Термін «C₁-C₆алк» стосується аліфатичного лінкєру, що має 1, 2, 3, 4, 5 або 6 атомів вуглецю, і він включає, наприклад, -CH₂-, -CH(CH₃)-, -CH(CH₃)-CH₂- і -C(CH₃)₂-. Термін "-C₀алк-" стосується зв'язку.

Термін «алкіл» стосується прямої або розгалуженої вуглеводневої групи, що має від 1 до 12 атомів вуглецю («C₁-C₁₂»), переважно від 1 до 6 атомів вуглецю («C₁-C₆»), в групі. Приклади алкільних груп включають метил (Me, C₁алкіл), етил (Et, C₂алкіл), н-пропіл (C₃алкіл), ізопропіл (C₃алкіл), бутіл (C₄алкіл), ізобутіл (C₄алкіл), втор-бутіл (C₄алкіл), трет-бутіл (C₄алкіл), пентил (C₅алкіл), ізопентил (C₅алкіл), трет-пентил (C₅алкіл), гексил (C₆алкіл), ізогексил (C₆алкіл) і т. п.

Термін «гетероциклоалкіл» стосується будь-якого від три- до десятичленної моноциклічної або біциклічної насиченої кільцевої структури, що містить щонайменше один гетероатом, вибраний з групи, яка складається з O, N і S. Приклади придатних гетероциклоалкільних груп включають, але не обмежуються ними, азепаніл, азиридиніл, азетидиніл, піролідиніл, піперазиніл, піперидиніл, морфолініл, тіоморфолініл і т. п.

Термін «арил», коли його використовують окремо або як частину групи замісника, стосується моно- або біциклічної ароматичної вуглеводневої кільцевої структури, що має 6 або 10 атомів вуглецю в кільці. Переважні арильні частини включають феніл і нафтил.

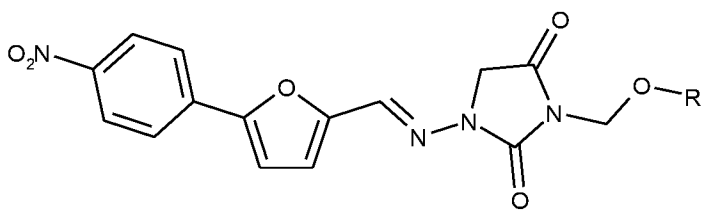
Термін «арилєн» стосується моно- або біциклічної ароматичної вуглеводневої кільцевої структури, що має 6 або 10 атомів вуглецю в кільці. Переважні ариленові частини включають фенілен і нафтілен. Сполуки за винаходом можуть бути хіральними і в результаті можуть існувати як єдиний енантіомер або суміш енантіомерів. Всі енантіомери і їх суміші охоплюються даним винаходом.

Також в обсяг винаходу входять ізотопні варіанти сполук формули I і II. Як використовують у межах винаходу, термін «ізотопний варіант» стосується сполуки, яка містить частки ізотопів одного або кількох атомів, які складають сполуку, в кількості, що перевищує природну. Наприклад, «ізотопний варіант» сполуки може бути радіоактивно міченим, тобто може містити один або кілька радіоактивних ізотопів або може бути міченим не радіоактивними ізотопами, наприклад, такими як дейтерій (²H або D), вуглець-11 (¹¹C), вуглець-13 (¹³C), азот-15 (¹⁵N),

фторид-18 (^{18}F) і т. п. Буде зрозуміло, що в сполуці, де вносять таку ізотопну заміну, наступні атоми, коли вони присутні, можуть варіюватися, так що, наприклад, будь-який водень може являти собою $^2\text{H/D}$, будь-який вуглець може являти собою ^{11}C або ^{13}C , будь-який азот може являти собою ^{15}N , або будь-який фторид (за наявності) може являти собою ^{18}F , і що присутність і знаходження таких атомів можна визначати способами, відомими в даній галузі.

Сполуки формули I і II конвертуються у дантролен *in vivo*. У деяких аспектах сполуки формули I і II конвертуються у дантролен *in vivo* з часом напівжиття від приблизно 1 секунди або менше до приблизно від 1 хвилини до 90 хвилин. У деяких аспектах, сполуки формули I і II конвертуються в дантролен *in vivo* з часом напівжиття менше 1 секунди. У інших аспектах, сполуки формули I і II конвертуються у дантролен *in vivo* з часом напівжиття, що становить секунди, тобто з часом напівжиття менше однієї хвилини, наприклад, з часом напівжиття приблизно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58 або приблизно 59 секунд. У інших аспектах сполуки формули I і II конвертуються у дантролен *in vivo* з часом напівжиття від приблизно 1 до приблизно 5 хвилин, наприклад, приблизно 1, 2, 3, 4 або приблизно 5 хвилин. У інших аспектах сполуки формули I і II конвертуються у дантролен *in vivo* з часом напівжиття від приблизно 1 до приблизно 10 хвилин. У інших аспектах сполуки формули I і II конвертуються у дантролен *in vivo* з часом напівжиття від приблизно 5 до приблизно 10 хвилин. У деяких аспектах сполуки формули I і II конвертуються в дантролен *in vivo* з часом напівжиття приблизно від 1 хвилини до 60 хвилин. У деяких аспектах сполуки формули I і II конвертуються в дантролен *in vivo* з часом напівжиття приблизно від 1 хвилини до 45 хвилин. У деяких аспектах сполуки формули I і II конвертуються у дантролен *in vivo* з часом напівжиття приблизно від 1 хвилини до 30 хвилин. У деяких аспектах сполуки формули I і II конвертуються в дантролен *in vivo* з часом напівжиття приблизно від 1 хвилини до 20 хвилин. У деяких аспектах сполуки формули I і II конвертуються в дантролен *in vivo* з часом напівжиття приблизно 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85 або приблизно 90 хвилин.

Винахід стосується проліків дантролену формули I:



де R являє собою

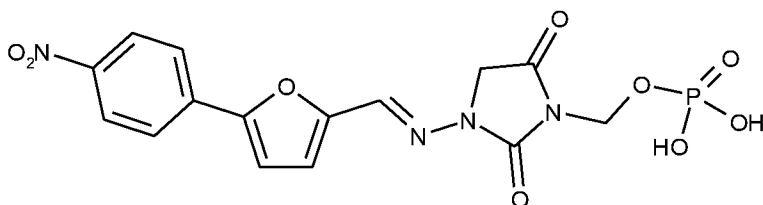
$-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ або $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}_1)(\text{OR}_2)$;

R_1 являє собою H, $-\text{C}_{1-26}$ алкіл, арил, C_{1-6} алк $\text{C}(\text{O})\text{O}-\text{C}_{1-26}$ алкіл, $-\text{C}_{1-6}$ алк $\text{OC}(\text{O})\text{C}_{1-26}$ алкіл або C_{1-6} алк $\text{OC}(\text{O})\text{OC}_{1-26}$ алкіл; і

R_2 являє собою $-\text{C}_{1-26}$ алкіл, арил, C_{1-6} алк $\text{C}(\text{O})\text{O}-\text{C}_{1-26}$ алкіл, $-\text{C}_{1-6}$ алк $\text{OC}(\text{O})\text{C}_{1-26}$ алкіл або C_{1-6} алк $\text{OC}(\text{O})\text{OC}_{1-26}$ алкіл;

або їх фармацевтично прийнятних солей.

У деяких аспектах проліки дантролену за винаходом являють собою проліки детролену, де R являє собою $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$, і вони мають формулу I-A:

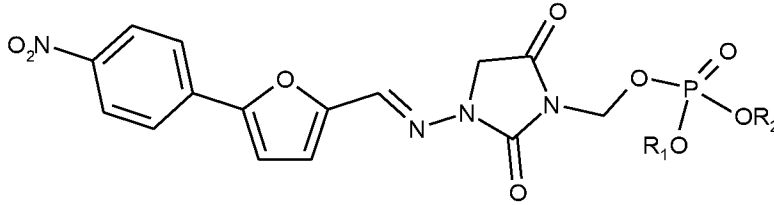


I-A

Також в обсяг винаходу входять фармацевтично прийнятні солі сполук формули I-A. Переважні солі включають, наприклад, натрієві солі сполук формули I-A. Також в обсяг винаходу входять солі сполук формули I-A з літійем, магнієм, кальцієм і калієм. Альтернативні сольові форми включають солі амонію, холіну і трометаміну. Переважною сіллю сполуки формули I-A є сіль мононатрію. Іншою переважною сіллю сполуки формули I-A є сіль динатрію.

Іншою переважною сіллю сполуки формули I-A є сіль монотрометаміну. Іншою переважною сіллю сполуки формули I-A є сіль дитрометаніну. Також в обсяг винаходу входять фармацевтично прийнятні органічні солі сполук формули I-A.

У деяких аспектах проліки дантролену за винаходом являють собою проліки, де R являє собою -P(O)(OR₁)(OR₂), і вони мають формулу I-B:



I-B

У деяких аспектах R₁ являє собою H. В цих аспектах R₂ являє собою -C₁₋₂₆алкіл, арил, C₁₋₆алкC(O)O-C₁₋₂₆алкіл, -C₁алкOC(O)C₁₋₂₆алкіл або C₁алкOC(O)OC₁₋₂₆алкіл. Також в обсяг винаходу входять фармацевтично прийнятні солі таких сполук формули I-B. Переважні солі включають, наприклад, натрієві солі сполук формули I-B. Інші солі включають солі сполук формули I-B з літієм, магнієм, кальцієм і калієм. Альтернативні форми солей включають солі амонію, холіну і трометаміну. Також в обсяг винаходу входять фармацевтично прийнятні органічні солі сполук формули I-B.

У деяких аспектах сполук формули I-B, R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁₋₂₆алкіл. Наприклад, у деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁₋₆алкіл. У інших аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁₋₁₂алкіл. У інших аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁₃₋₂₆алкіл. У інших аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁₈₋₂₆алкіл. У інших аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₂₀₋₂₆алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₂алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₃алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₄алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₅алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₆алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₇алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₈алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₉алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁₀алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁₁алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁₂алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁₃алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁₄алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁₅алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁₆алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁₇алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁₈алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁₉алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₂₀алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₂₁алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₂₂алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₂₃алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₂₄алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₂₅алкіл. У деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою C₂₆алкіл.

У деяких аспектах сполук формули I-B, R₁ являє собою H і R₂ являє собою арил. Наприклад, в деяких аспектах сполук формули I-B, R₁ являє собою H і R₂ являє собою феніл.

У деяких аспектах сполук формули I-B, R₁ являє собою H і R₂ являє собою C₁₋₆алкC(O)O-C₁₋₂₆алкіл. Наприклад, у деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою C₁алкC(O)O-C₁₋₂₆алкіл. У інших аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою C₂алкC(O)O-C₁₋₂₆алкіл. У інших аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою C₃алкC(O)O-C₁₋₂₆алкіл. У інших аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою C₄алкC(O)O-C₁₋₂₆алкіл. У інших аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою C₅алкC(O)O-C₁₋₂₆алкіл. У інших аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою C₆алкC(O)O-C₁₋₂₆алкіл. У інших аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою C₁₋₆алкC(O)O-C₁₋₆алкіл. У інших аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою C₁₋₆алкC(O)O-C₁₋₁₂алкіл. У інших аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою C₁₋₆алкC(O)O-C₁₃₋₂₆алкіл. У інших аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою C₁₋₆алкC(O)O-C₁₈₋₂₆алкіл. У інших аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою C₁₋₆алкC(O)O-C₂₀₋₂₆алкіл.

У деяких аспектах сполук формули I-B, R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁алкOC(O)C₁₋₂₆алкіл. Наприклад, у деяких аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁алкOC(O)C₁₋₆алкіл. У інших аспектах R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁алкOC(O)C₁₋₁₂алкіл. R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁алкOC(O)C₁₃₋₁₆алкіл. R₁ являє собою H і R₂ являє собою -C₁алкOC(O)C₁₈₋

(наприклад, феніл).

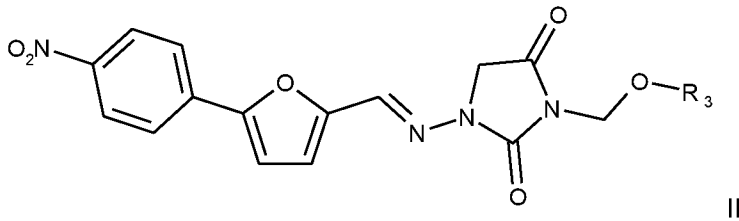
У деяких аспектах R_1 являє собою $C_{1-6}alkC(O)O-C_{1-26}alk$ і R_2 являє собою $C_{1-6}alkC(O)O-C_{1-26}alk$. Наприклад, у деяких аспектах кожний з R_1 і R_2 незалежно являє собою $C_1alkC(O)O-C_{1-26}alk$, $C_2alkC(O)O-C_{1-26}alk$, $C_3alkC(O)O-C_{1-26}alk$, $C_4alkC(O)O-C_{1-26}alk$, $C_5alkC(O)O-C_{1-26}alk$, $C_6alkC(O)O-C_{1-26}alk$, $C_{1-6}alkC(O)O-C_{1-6}alk$, $C_{1-6}alkC(O)O-C_{1-12}alk$, $C_{1-6}alkC(O)O-C_{13-26}alk$, $C_{1-6}alkC(O)O-C_{18-26}alk$ або $C_{1-6}alkC(O)O-C_{20-26}alk$.

У деяких аспектах R_1 являє собою $-C_1alkOC(O)C_{1-26}alk$ і R_2 являє собою $-C_1alkOC(O)C_{1-26}alk$. Наприклад, у деяких аспектах кожний з R_1 і R_2 незалежно являє собою $C_1alkOC(O)C_{1-6}alk$, $-C_1alkOC(O)C_{1-12}alk$, $-C_1alkOC(O)C_{13-16}alk$, $-C_1alkOC(O)C_{18-26}alk$ або $-C_1alkOC(O)C_{20-26}alk$.

У деяких аспектах R_1 являє собою $-C_1alkOC(O)OC_{1-26}alk$ і R_2 являє собою $-C_1alkOC(O)OC_{1-26}alk$. Наприклад, у деяких аспектах кожний з R_1 і R_2 незалежно являє собою $C_1alkOC(O)OC_{1-6}alk$, $-C_1alkOC(O)OC_{1-12}alk$, $-C_1alkOC(O)OC_{13-16}alk$, $-C_1alkOC(O)OC_{18-26}alk$ або $-C_1alkOC(O)OC_{20-26}alk$.

Сполуки формули I, які включають сполуки формули I-A і I-B, можуть бути надані як фармацевтично прийнятні солі, коли це застосовно. Ці солі включають солі натрію. Також передбачаються солі калію, літію, кальцію і магнію. Альтернативні форми солей включають солі амонію, холіну і трометаміну.

Також в обсяг винаходу входять проліки дантролену формули II



II

де

R_3 являє собою H, $-C(O)-Z-N(R_4)(R_5)$, $-C(O)Z-C(O)-OH$, або $-C(O)-Y-CH_2-OC(O)-Z-C(O)-OH$;

Z являє собою $C_{1-6}alk$;

Y являє собою арил;

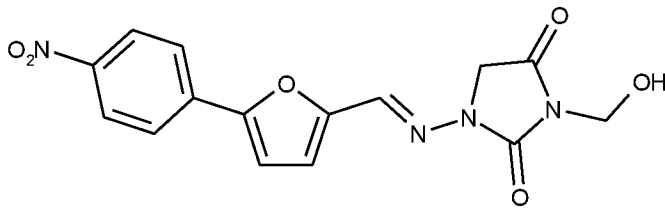
R_4 являє собою H або $C_{1-6}alk$;

R_5 являє собою H або $C_{1-6}alk$;

або R_4 і R_5 , разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, утворюють гетероциклоалкіл;

або їх фармацевтично прийнятна сіль.

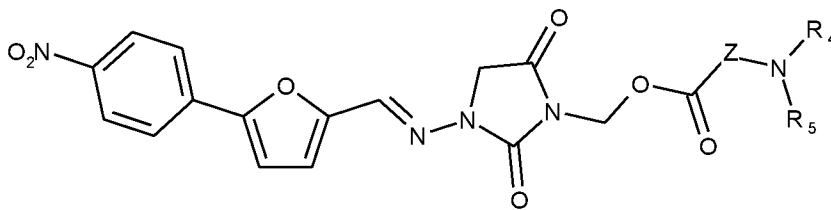
У переважних аспектах R_3 являє собою H і сполука формули II являє собою сполуку формули II-A



II-A

або її фармацевтично прийнятну сіль.

У інших аспектах формули II, R_3 являє собою $C(O)-Z-N(R_4)(R_5)$ і сполука формули II являє собою сполуку формули II-B



II-B

де

Z являє собою C₁₋₆алк;

R₄ являє собою H або C₁₋₆алкіл;

R₅ являє собою H або C₁₋₆алкіл;

5 або R₄ і R₅, разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, утворюють гетероциклоалкіл; або її фармацевтично прийнятну сіль.

У цих аспектах формули II-B, Z може являти собою C₁алк, C₂алк, C₃алк, C₄алк, C₅алк або C₆алк. У деяких аспектах Z являє собою C₁₋₂алк. У деяких аспектах Z являє собою C₁алк.

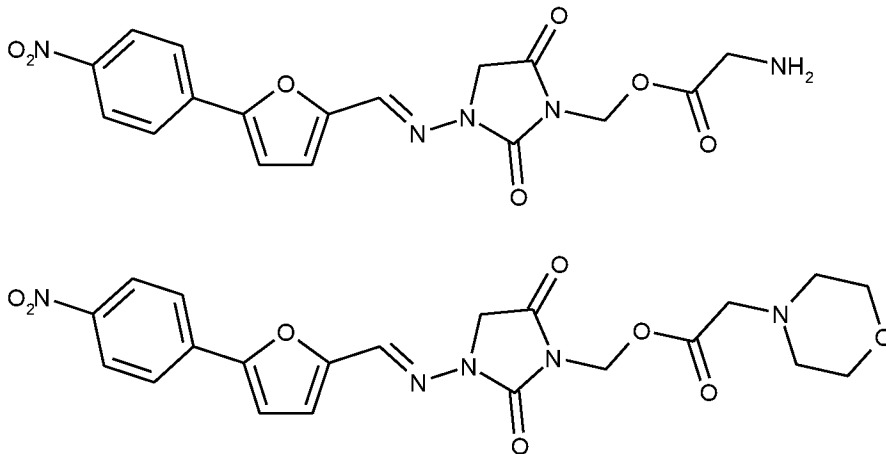
10 В цих аспектах формули II-B, R₄ являє собою H. У інших аспектах R₄ являє собою C₁₋₆алкіл, наприклад, C₁алкіл, C₂алкіл, C₃алкіл, C₄алкіл, C₅алкіл або C₆алкіл. В переважних аспектах R₄ являє собою метил, етил або ізопропіл.

В цих аспектах формули II-B, R₅ являє собою H. У інших аспектах R₅ являє собою C₁₋₆алкіл, наприклад, C₁алкіл, C₂алкіл, C₃алкіл, C₄алкіл, C₅алкіл або C₆алкіл. В переважних аспектах R₅ являє собою метил, етил або ізопропіл.

15 В деяких з цих аспектів формули II-B, R₄ являє собою H і R₅ являє собою H. У інших аспектах R₄ являє собою H і R₅ являє собою C₁₋₆алкіл, наприклад, C₁алкіл, C₂алкіл, C₃алкіл, C₄алкіл, C₅алкіл або C₆алкіл. У інших аспектах кожний з R₄ і R₅ незалежно являє собою C₁₋₆алкіл, наприклад, C₁алкіл, C₂алкіл, C₃алкіл, C₄алкіл, C₅алкіл або C₆алкіл.

20 У деяких з цих аспектів формули II-B, R₄ і R₅, разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, утворюють гетероциклоалкіл. Переважні гетероциклоалкільні частини включають, наприклад, морфолініл, піперазиніл, піперидиніл, піролідиніл, азетидиніл і азиридиніл.

Переважні сполуки формули II-B включають, наприклад,

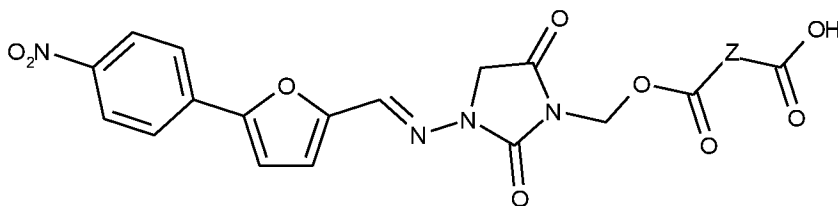


25

і їх фармацевтично прийнятні солі.

У інших аспектах формули II, R₃ являє собою C(O)-Z-C(O)-OH і сполука формули II являє собою сполуку формули II-C

30



II-C

де

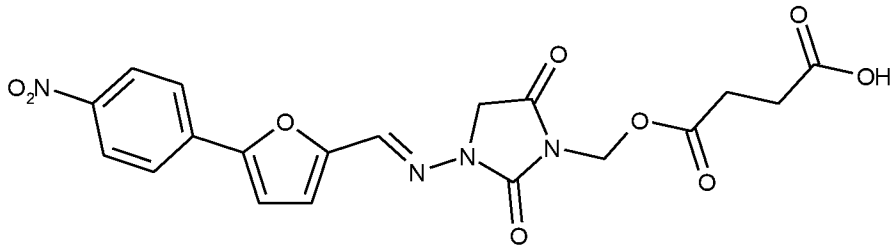
Z являє собою C₁₋₆алк;

35 або її фармацевтично прийнятну сіль.

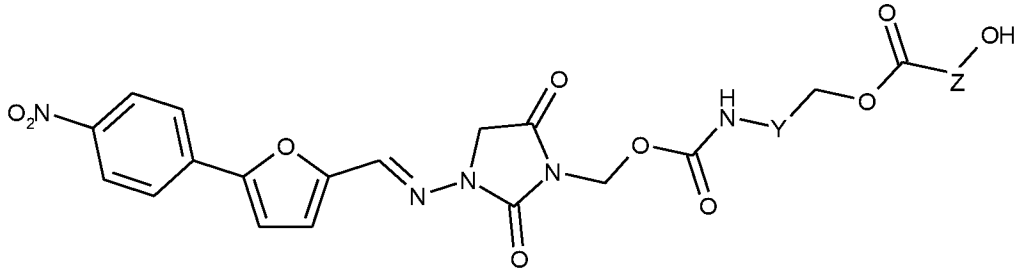
У цих аспектах формули II-C, Z може являти собою C₁алк, C₂алк, C₃алк, C₄алк, C₅алк або C₆алк. У деяких аспектах Z являє собою C₁₋₂алк. У деяких аспектах Z являє собою C₁алк. У деяких аспектах Z являє собою C₂алк.

Переважна сполука формули II-C являє собою

40

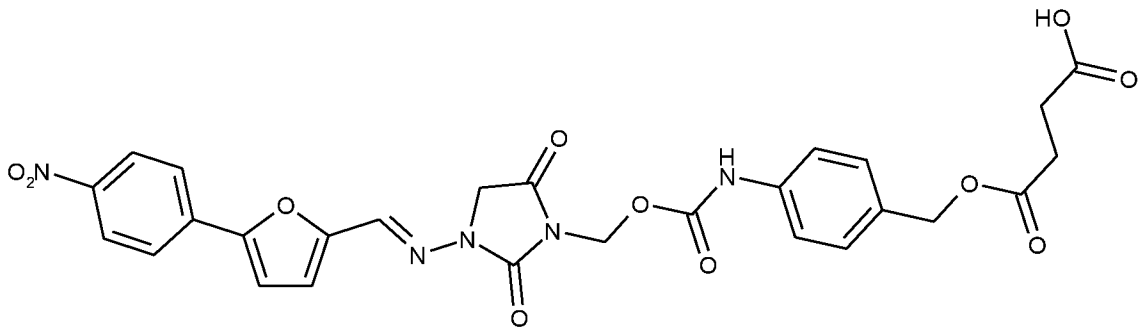


- і її фармацевтично прийнятні солі.
 У інших аспектах формули II R₃ являє собою -C(O)-NH-Y-CH₂-OC(O)-Z-C(O)-OH і сполука
 5 формули II являє собою сполуку формули II-D



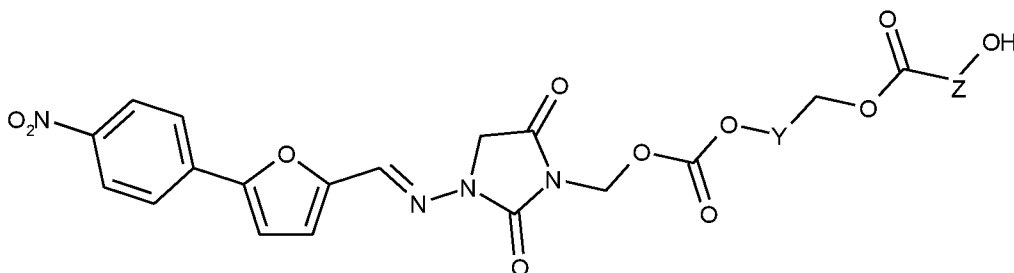
II-D

- де
 10 Y являє собою арилен; і
 Z являє собою C₁₋₆алк;
 або її фармацевтично прийнятну сіль.
 У цих аспектах формули II-D Y може являти собою фенілен або нафтілен, переважно
 фенілен.
 15 У цих аспектах формули II-D Z може являти собою C₁алк, C₂алк, C₃алк, C₄алк, C₅алк або
 C₆алк. У деяких аспектах Z являє собою C₁₋₂алк. У деяких аспектах Z являє собою C₁алк. У
 деяких аспектах Z являє собою C₂алк.
 Переважна сполука формули II-D являє собою



20

- і її фармацевтично прийнятні солі.
 У інших аспектах R₃ являє собою -C(O)-O-Y-CH₂-OC(O)-Z-C(O)-OH і сполука формули II
 25 являє собою сполуку формули II-E



II-E

де

Y являє собою арилен; i

Z являє собою C₁₋₆алк;

5 або її фармацевтично прийнятну сіль.

У цих аспектах формули II-E Y може являти собою фенілен або нафтилен, переважно фенілен.

У цих аспектах формули II-E Z може являти собою C₁алк, C₂алк, C₃алк, C₄алк, C₅алк або C₆алк. У деяких аспектах Z являє собою C₁₋₂алк. У деяких аспектах Z являє собою C₁алк. У

10 деяких аспектах Z являє собою C₂алк.

Сполуки формули II, які включають сполуки формули II-A, II-B, II-C, II-D і II-E, можуть бути надані як фармацевтично прийнятні солі, у відповідних випадках. Вони включають солі натрію. Також передбачаються солі калію, літію, кальцію і магнію. Альтернативні форми солей включають солі амонію, холіну і трометаміну. Також в обсяг винаходу входять фармацевтично

15 прийнятні органічні солі сполук формули II.

Сполуки формули I і II, які включають сполуки формули I-A, I-B, II-A, II-B, II-C, II-D і II-E і їх фармацевтично прийнятні солі, можна отримувати як фармацевтичні композиції шляхом комбінування сполуки з фармацевтично прийнятним ексципієнтом. У деяких варіантах здійснення один або кілька додаткових фармацевтично прийнятних ексципієнтів вибрані з

20 групи, яка складається з консервантів, антиоксидантів або їх сумішей. У інших варіантах здійснення винаходу додатковий фармацевтично прийнятний ексципієнт являє собою консервант, такий як, але не обмежуючись ними, фенол, крезол, складний ефір п-гідроксибензойної кислоти, хлорбутанол або їх суміші. У інших варіантах здійснення винаходу фармацевтично прийнятний ексципієнт являє собою антиоксидант, такий як, але не

25 обмежуючись ними, аскорбінова кислота, піросульфід натрію, пальмітинова кислота, бутилований гідроксіанізол, бутилований гідрокситолуол, токоферолі або їх суміші.

Фармацевтичні композиції за винаходом можуть бути надані як суспензії. У інших варіантах здійснення фармацевтичні композиції за винаходом можуть бути надані як розчини.

У фармацевтичних композиціях за винаходом сполука за винаходом може бути присутня в

30 концентрації від приблизно 1 мг/мл до приблизно 400 мг/мл, наприклад, від 1 мг/мл до приблизно 200 мг/мл, від 1 мг/мл до приблизно 300 мг/мл, від переважно 5 мг/мл до приблизно 125 мг/мл, переважно при фізіологічних значеннях рН. У конкретних варіантах здійснення винаходу сполука за винаходом присутня в концентрації, що дорівнює або перевищує приблизно 5 мг/мл. У наступних варіантах здійснення сполука за винаходом присутня в

35 концентрації приблизно від 10 до 25 мг/мл. У наступних варіантах здійснення сполука за винаходом присутня в концентрації приблизно 1 мг/мл, 5 мг/мл, 10 мг/мл, 15 мг/мл, 20 мг/мл, 25 мг/мл, 30 мг/мл, 35 мг/мл, 40 мг/мл, 45 мг/мл або 50 мг/мл. У наступних варіантах здійснення сполука за винаходом присутня в концентрації приблизно 125 мг/мл, 150 мг/мл, 175 мг/мл, 200 мг/мл, 225 мг/мл, 250 мг/мл, 275 мг/мл, 300 мг/мл, 325 мг/мл, 350 мг/мл, 375 мг/мл або

40 приблизно 400 мг/мл.

У певних варіантах здійснення сполука за винаходом присутня в концентрації, що дорівнює або перевищує приблизно 55 мг/мл. У наступних варіантах здійснення сполука за винаходом присутня в концентрації приблизно від 55 до 125 мг/мл. У конкретних варіантах здійснення сполука за винаходом присутня в концентрації приблизно 75 мг/мл, 80 мг/мл, 85 мг/мл, 90

45 мг/мл, 95 мг/мл, 100 мг/мл, 105 мг/мл, 110 мг/мл, 115 мг/мл, 120 мг/мл або 125 мг/мл. У інших варіантах здійснення сполука за винаходом присутня в концентрації приблизно від 75 мг/мл до 95 мг/мл, від 80 мг/мл до 100 мг/мл, від 90 мг/мл до 110 мг/мл, від 95 мг/мл до 105 мг/мл, від 95 мг/мл до 115 мг/мл, від 100 мг/мл до 110 мг/мл, від 110 мг/мл до 125 мг/мл, включаючи всі діапазони і піддіапазони між ними.

У певних варіантах здійснення фармацевтичні композиції за винаходом можуть додатково містити стабілізатор або два або більше стабілізаторів. У наступних варіантах здійснення винаходу стабілізатор вибраний з групи, яка складається з поверхнево-активних речовин, полімерів, зшитих полімерів, буферних речовин, електролітів і неелектролітів. У наступних

55 варіантах здійснення винаходу композиція містить комбінацію двох або більше стабілізаторів, вибраних із групи, яка складається з поверхнево-активних речовин, полімерів, зшитих полімерів, буферних речовин, електролітів і неелектролітів. У наступних варіантах здійснення винаходу стабілізатор являє собою поверхнево-активну речовину, таку як, але не обмежуючись ними, поліетиленоксид (PEO), похідне PEO, полісорбат 80, полісорбат 20, полоксамер 188, поліетоксильовані рослинні олії, лецитин, сироватковий альбуміном людини і їх суміші. У

60 конкретних варіантах здійснення винаходу стабілізатор являє собою полімер, такий як, але не

обмежуючись ними, полівінілпіролідон (такий як, але не обмежуючись ними, повідон K12, повідон K17 і їх суміші), поліетиленгліколь 3350 і їх суміші. У інших варіантах здійснення винаходу стабілізатор являє собою електроліт, такий як, але не обмежуючись ними, хлорид натрію, хлорид кальцію і їх суміші. У інших варіантах здійснення винаходу стабілізатор являє собою неелектроліт, такий як, але не обмежуючись ними, декстроза, гліцерин, маніт або їх суміші. У інших варіантах здійснення винаходу стабілізатор являє собою зшитий полімер, такий як, але не обмежуючись ними, натрій карбоксиметилцелюлоза (СМС). У деяких варіантах здійснення винаходу стабілізатор являє собою СМС 7LF, СМС 7MF, СМС 7HF або їх суміші.

У наступних варіантах здійснення винаходу можна використовувати комбінації неелектролітних стабілізаторів і електролітних стабілізаторів. У деяких варіантах здійснення комбінація стабілізаторів може містити два або більше неелектролітних стабілізаторів. У інших варіантах здійснення комбінація стабілізаторів може містити два або більше електролітних стабілізаторів. У наступних варіантах здійснення комбінація стабілізаторів може містити один або кілька неелектролітних стабілізаторів і один або кілька електролітних стабілізаторів. У наступних варіантах здійснення комбінація стабілізаторів може містити два або більше з маніту, декстрози і хлориду натрію.

У певних варіантах здійснення винаходу можна використовувати комбінації стабілізаторів на основі поверхнево-активних речовин і полімерних стабілізаторів. У деяких варіантах здійснення комбінація стабілізаторів може містити два або більше стабілізаторів на основі поверхнево-активних речовин. У інших варіантах здійснення комбінація стабілізаторів може містити два або більше полімерних стабілізаторів. У наступних варіантах здійснення комбінація стабілізаторів може містити один або кілька стабілізаторів на основі поверхнево-активних речовин і один або кілька полімерних стабілізаторів. У наступних варіантах здійснення комбінація стабілізаторів може містити два або більше з полісорбату 80, полісорбату 20 і поллоксамеру 188. У наступних варіантах здійснення комбінація стабілізаторів може містити один або кілька з полісорбату 80, полісорбату 20 і поллоксамеру 188 і один або кілька з повідону K12, повідону K17 і поліетиленгліколю 3350.

У певних варіантах здійснення винаходу композиція містить від приблизно 0,2 мг/мл до приблизно 75 мг/мл одного або кількох стабілізаторів і всі діапазони і піддіапазони між ними. У конкретних варіантах здійснення винаходу композиція містить приблизно від 0,2 до 0,7 мг/мл, від 0,5 до 1 мг/мл, від 1 до 5 мг/мл, від 2 до 8 мг/мл, від 5 до 6 мг/мл, від 5 до 10 мг/мл, від 8 до 12 мг/мл, від 10 до 15 мг/мл, від 15 до 20 мг/мл, від 20 до 30 мг/мл, від 30 до 40 мг/мл, від 40 до 50 мг/мл, від 45 до 55 мг/мл, від 50 до 60 мг/мл або від 60 до 75 мг/мл одного або кількох стабілізаторів і всі діапазони і піддіапазони між ними. У наступних варіантах здійснення винаходу композиція містить приблизно 0,2 мг/мл, 0,5 мг/мл, 1 мг/мл, 2 мг/мл, 3mg/мл, 4 мг/мл, 5 мг/мл, 5,5 мг/мл, 6 мг/мл, 7 мг/мл, 8 мг/мл, 9 мг/мл, 10 мг/мл, 12 мг/мл, 15 мг/мл, 17 мг/мл, 20 мг/мл, 25 мг/мл, 30 мг/мл, 35 мг/мл, 40 мг/мл, 45 мг/мл, 50 мг/мл, 55 мг/мл, 60 мг/мл, 65 мг/мл, 70 мг/мл або 75 мг/мл одного або кількох стабілізаторів.

У конкретних варіантах здійснення винаходу композиція додатково містить один або кілька буферних засобів, таких як, але не обмежуючись ними, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, безводний NaH_2PO_4 , цитрат натрію, лимонна кислота, Tris, гідроксид натрію, HCl або їх суміші. У певних варіантах здійснення винаходу композиція містить приблизно від 1 мМ до 20 мМ одного або кількох буферних засобів, і всі діапазони і піддіапазони між ними. У конкретних варіантах здійснення винаходу композиція містить приблизно від 1 до 2 мМ, від 1 до 3 мМ, від 1 до 5 мМ, від 2 до 8 мМ, від 5 до 6 мМ, від 5 до 10 мМ, від 8 до 12 мМ, від 10 до 15 мМ, або від 15 до 20 мМ одного або кількох буферних засобів, і всі діапазони і піддіапазони між ними. У наступних варіантах здійснення винаходу композиція містить приблизно 1 мМ, 2 мМ, 3 мМ, 4 мМ, 5 мМ, 6 мМ, 7 мМ, 8 мМ, 9 мМ, 10 мМ, 11mM, 12 мМ, 13 мМ, 14 мМ, 15 мМ, 16 мМ, 17 мМ, 18 мМ, 19 мМ або 20 мМ одного або кількох буферних засобів.

У певних варіантах здійснення винаходу фармацевтична композиція має рН приблизно 3-10, наприклад, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або 10. У наступних варіантах здійснення винаходу композиція має рН приблизно 5-9. У наступних варіантах здійснення винаходу композиція має рН приблизно 6-9. У наступних варіантах здійснення винаходу композиція має рН приблизно 6-7. У наступних варіантах здійснення винаходу композиція має рН приблизно 6-8,5. У наступних варіантах здійснення винаходу композиція має рН від більш ніж 7 до 8,5. У певних варіантах здійснення винаходу композиція має рН приблизно від 6,0 до 8,0. У конкретних варіантах здійснення винаходу композиція має рН приблизно від 6,0 до 7,0, від 6,5 до 7,0, від 6,5 до 7,5, від 6,7 до 7,2, від 7,0 до 7,2, від 7,0 до 7,5, від 7,0 до 8,0 або від 7,0 до 8,5.

У певних варіантах здійснення винаходу фармацевтична композиція має осмолярність від

приблизно 280 мосм/л до приблизно 310 мосм/л, наприклад, приблизно 280, 285, 290, 300, 305 або приблизно 310 мосм/л. У наступних варіантах здійснення винаходу композиція має осмолярність від приблизно 290 мосм/л до приблизно 300 мосм/л. У наступних варіантах здійснення винаходу композиція має осмолярність приблизно 290 мосм/л. У деяких варіантах здійснення осмолярність може бути вибрана за допомогою застосування належних кількостей одного або кількох стабілізаторів, які виступають як засоби, які змінюють тонічність, в композиції, такі як, але не обмежуючись ними, неелектролітні стабілізатори і електролітні стабілізатори, описані в даному описі. У деяких варіантах здійснення осмолярність може бути вибрана за допомогою застосування належних кількостей одного або кількох буферних засобів, які виступають як засоби, які змінюють тонічність, в композиції, такі як, але не обмежуючись ними, буферні засоби, описані в даному описі.

Фармацевтичні композиції за винаходом можна вводити внутрішньовенно. Альтернативно фармацевтичні композиції за винаходом можна вводити внутрішньом'язово. У інших варіантах здійснення фармацевтичні композиції за винаходом вводять підшкірно. Фармацевтичні композиції за винаходом також можна вводити перорально. У інших варіантах здійснення фармацевтичні композиції за винаходом вводять трансмукозальним шляхом, наприклад, за допомогою інтраназального введення. У інших варіантах здійснення фармацевтичні композиції за винаходом вводять внутрішньокістковим шляхом.

Сполуки і фармацевтичні композиції за винаходом можна використовувати для лікування порушень, які відповідають на дантролен. Наприклад, індивідуумам, які потребують лікування, можна вводити терапевтично ефективну кількість сполуки за винаходом або її солі. У інших аспектах індивідуумам, які потребують лікування, можна вводити терапевтично ефективну кількість фармацевтичної композиції за винаходом або її солі. У інших аспектах індивідуумам, які потребують лікування, можна вводити терапевтично ефективну кількість сполуки за винаходом, наприклад, сполуки формули I-A, I-B, II-A, II-B, II-C, II-D, II-E або її фармацевтично прийнятної солі. Наприклад, індивідууму, який потребує лікування, можна вводити терапевтично ефективну кількість сполуки за винаходом, наприклад, сполуки формули II-A, або її фармацевтично прийнятної солі.

Порушення, які відповідають на дантролен, включають, наприклад, злякисну гіпертермію, хронічну спастичність, тепловий удар внаслідок виснажливого фізичного навантаження, аритмії серця, тахікардії, фібриляцію передсердь, зупинку серця, інфаркт міокарда, серцеву недостатність, пошкодження міокарда, кардіоміопатію, хворобу центральних волокон, бічний аміотрофічний склероз, рабдоміоліз, м'язову дистрофію Дюшенна, атаксію, гіперактивність детрузора, гіперактивний сечовий міхур, судоми, епілепсію, нейролептичний злякисний синдром, стрес-реакцію людини, хворобу Альцгеймера, хворобу Гентингтона, розсіяний склероз, бічний аміотрофічний склероз, хворобу Паркінсона, пошкодження при ішемії-реперфузії, нейрональне пошкодження при реперфузії, гіпоксію, аневризму головного мозку, субарахноїдальний крововилив, інсульт, гіпертермію, асоційовану з пристрастю до наркотиків, або гіпертермію, асоційовану з передозування наркотиків.

У переважних аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування злякисної гіпертермії у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування хронічної спастичності у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування теплового удару внаслідок виснажливого фізичного навантаження.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування аритмій серця у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування тахікардій у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування фібриляції передсердь у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування зупинки серця у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування інфаркту міокарда у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування серцевої недостатності у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування пошкодження міокарда у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують

для лікування кардіоміопатії у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування хвороби центральних волокон у індивідуума.

5 У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування бічного аміотрофічного склерозу у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування рабдоміолізу у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування м'язової дистрофії Дюшенна у індивідуума.

10 У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування атаксії у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування гіперактивності детрузора у індивідуума.

15 У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування гіперактивного сечового міхура у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування епілептичних судом у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування епілепсії у індивідуума.

20 У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування нейролептичного злякисного синдрому у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування стрес-реакції людини у індивідуума.

25 У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування хвороби Альцгеймера у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування хвороби Гентингтона у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування розсіяного склерозу у індивідуума.

30 У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування хвороби Паркінсона у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування пошкодження при ішемії-реперфузії у індивідуума.

35 У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування нейронального пошкодження при реперфузії у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування гіпоксії у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування аневризми головного мозку у індивідуума.

40 У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування субарахноїдального крововиливу у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування інсульту у індивідуума.

45 У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування гіпертермії, асоційованої з пристрастю до наркотиків (наприклад, пристрастю до екстазі (3,4-метилендіоксиметамфетамін)) у індивідуума.

У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування гіпертермії, асоційованої з передозування наркотику (наприклад, передозування екстазі (3,4-метилендіоксиметамфетамін)) у індивідуума.

50 У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування накопичення ацетилхоліну у індивідуума. У інших аспектах сполуки і/або фармацевтичні композиції за винаходом використовують для лікування впливу нейротоксичної нервово-паралітичної речовини, наприклад, впливу нервово-паралітичного газу (наприклад, фосфорорганічні гази, такі як зарин, зоман і VX) у індивідуума. Див., наприклад, попередню заявку США № 62/554049, подану 5 вересня 2017 року. Як використовують у рамках винаходу, «нейротоксична нервово-паралітична речовина» або «нервово-паралітична речовина» стосується сполук, які впливають на передачу нервових імпульсів у нервовій системі. Нервово-паралітичні речовини являють собою фосфорорганічні сполуки, тобто вони мають формулу (R)₃P(O), де всі групи R можуть бути однаковими або можуть відрізняватися. Нервово-паралітичні речовини «G»-типу включають O-пінаколілметилфосфонофлуоридат (зоман, GD),

55

60

етил N,N-диметилфосфорамідоціанідат (табун, GA), пропан-2-ілметилфосфонофлуоридат (зарин, GB), циклогексилметилфосфонофлуоридат (циклозарин, GF) і 2-(диметиламіно)етил (GV). Нервово-паралітичні речовини «V»-типу включають O-циклопентил S-(2-діетиламіноетил)метилфосфонотіоат (EA-3148), (S)-(етил){[2-діетиламіно)етил]сульфоніл}(етил)фосфонати), такі як (S)-(етил {[2-діетиламіно)етил]сульфаніл}(етил)фосфінат (VE), O, O-діетил S-[2-діетиламіно)етил]фосфоротіоат (VG), S-[2-(діетиламіно)етил] O-етилметилфосфонотіоат (VM), N,N-діетил-2-(метил-(2-метилпропокси)фосфорил)сульфанілетанамін (VR) і етил({2-[біс(пропан-2-іл)аміно]етил]сульфаніл)(метил)фосфінат (VX). Способи, описані в даному описі, можна використовувати для лікування індивідуума, підданого впливу однієї нервово-паралітичної речовини. Способи, описані в даному описі, також можна використовувати для лікування індивідуума, підданого впливу двох або більше нервово-паралітичних речовин.

Як використовують у межах винаходу, вираз «внаслідок впливу нервово-паралітичної речовини» і «внаслідок впливу нервово-паралітичної речовини» стосуються ефектів, які є прямим наслідком впливу нервово-паралітичної речовини, а також ефектів, які є вторинними наслідками впливу нервово-паралітичної речовини.

У деяких аспектах винахід стосується способів лікування індивідуума, підданого впливу нервово-паралітичної речовини, фармацевтичною композицією, яка містить певну кількість сполуки формули I, як описано в даному описі, або її фармацевтично прийнятної солі. Наприклад, в деяких аспектах описані способи перешкоджають неврологічному пошкодженню, вторинному для впливу нервово-паралітичної речовини. У інших аспектах описані способи забезпечують нейропротективні ефекти після впливу нервово-паралітичної речовини. У інших аспектах описані способи пом'якшують пошкодження тканини головного мозку, яке є вторинним після впливу нервово-паралітичної речовини. У інших аспектах описані способи пом'якшують пошкодження тканини головного мозку, що є вторинним для епілептичного статусу, що є вторинним для впливу нервово-паралітичної речовини. У інших аспектах описані способи перешкоджають нейрональному некрозу внаслідок впливу нервово-паралітичної речовини. У інших аспектах описані способи пом'якшують нейрональний некроз внаслідок впливу нервово-паралітичної речовини. У інших аспектах описані способи лікують перевантаження внутрішньоклітинним кальцієм внаслідок впливу нервово-паралітичної речовини. У інших аспектах описані способи пом'якшують перевантаження внутрішньоклітинним кальцієм внаслідок впливу нервово-паралітичної речовини. У інших аспектах описані способи перешкоджають перевантаженню внутрішньоклітинним кальцієм внаслідок впливу нервово-паралітичної речовини.

Індивідууми, описані в даному описі, можуть піддаватися впливу нервово-паралітичної речовини за допомогою інгаляції. У інших аспектах індивідууми піддають впливу нервово-паралітичної речовини за допомогою черезшкірного перенесення речовини. У інших аспектах індивідууми піддають впливу нервово-паралітичної речовини за допомогою вживання рідини або їжі, контамінованої нервово-паралітичною речовиною. У інших аспектах індивідууми піддають впливу нервово-паралітичної речовини за допомогою підшкірного, внутрішньовенного або внутрішньом'язового введення речовини індивідууму.

У деяких аспектах способи стосуються способів захисту індивідуума від нейронального некрозу після впливу на індивідуума нервово-паралітичної речовини. У цих варіантах здійснення фармацевтичну композицію, яка містить певну кількість сполуки формули I або її фармацевтично прийнятної солі, вводять індивідууму після впливу на індивідуума нервово-паралітичної речовини. Як використовують у межах винаходу, «захист» від нейронального некрозу охоплює зменшення тяжкості ефектів нервово-паралітичної речовини або пом'якшення ефекту нервово-паралітичної речовини, або зменшення нейронального пошкодження внаслідок впливу нервово-паралітичної речовини. У деяких аспектах «захист» від нейронального некрозу охоплює попередження нейронального некрозу у індивідуума, підданого впливу нервово-паралітичної речовини. Таким чином, індивідууми, які «захищені» від нейронального некрозу за допомогою введення сполук і композицій, описаних в даному описі, краще проходять нейроповедінкові тести, порівняно з індивідуумами, підданими впливу нервово-паралітичної речовини, яким не вводили описані сполуки або композиції.

У деяких варіантах здійснення вся центральна нервова система індивідуума захищається від нейронального некрозу. У деяких варіантах здійснення від нейронального некрозу захищається лобно-тім'яна кора, гіпокамп і/або таламус. У інших аспектах від нейронального некрозу захищається лобно-тім'яна кора. У інших аспектах від нейронального некрозу захищається гіпокамп. У інших варіантах здійснення від нейронального некрозу захищається таламус.

Наявність і ступінь нейронального некрозу можна визначати з використанням способів, відомих у даній галузі, включаючи нейроповедінкові тести, радіологічні тести і патологічну оцінку.

5 Також винахід стосується способів захисту індивідуума від зниження функції центральної нервової системи внаслідок впливу нервово-паралітичної речовини. Ці способи включають введення індивідууму фармацевтичної композиції, яка містить певну кількість сполуки формули I або її фармацевтично прийнятної солі, після впливу на індивідуума нервово-паралітичної речовини.

10 Також винахід стосується способів захисту індивідуума від дисфункція центральної нервової системи внаслідок впливу нервово-паралітичної речовини. Ці способи включають введення індивідууму фармацевтичної композиції, яка містить певну кількість сполуки формули I, як описано в даному описі, або її фармацевтично прийнятної солі, після впливу на індивідуума нервово-паралітичної речовини.

15 Також винахід стосується способів лікування змін поведінки у індивідуума внаслідок впливу нервово-паралітичної речовини. Ці способи включають введення індивідууму фармацевтичної композиції, яка містить певну кількість сполуки формули I або її фармацевтично прийнятної солі, після впливу на індивідуума нервово-паралітичної речовини.

20 Як використовують у межах винаходу, «захист» від зниження функції центральної нервової системи охоплює зменшення тяжкості ефектів нервово-паралітичної речовини на центральну нервову систему або пом'якшення ефектів на центральну нервову систему нервово-паралітичної речовини, або зниження ефектів на центральну нервову систему нервово-паралітичної речовини. Отже, індивідууми, які «захищені» від зниження функції центральної нервової системи за допомогою введення описаних композицій, які містять сполуки формули I, краще проходять нейроповедінкові тести порівняно з індивідуумами, підданими впливу нервово-паралітичної речовини, яким не вводили описані композиції.

25 Також винахід стосується способів лікування судом, індукованих нервово-паралітичним засобом, у індивідуума, підданого впливу нервово-паралітичної речовини. У деяких аспектах судом, що піддаються лікуванню, являють собою епілептичний статус (SE). Ці способи включають введення індивідууму фармацевтичної композиції, яка містить певну кількість сполуки формули I або II або її фармацевтично прийнятної солі. Як використовують у межах винаходу, лікування випадків, індукованих нервово-паралітичною речовиною, приводить до зменшення тяжкості або тривалості судом. У інших аспектах лікування приводить до зниження як тяжкості, так і тривалості судом.

35 Кількість сполуки формули I або II або її фармацевтично прийнятної солі, що є ефективною для лікування індивідуума відповідно до будь-якого з описаних способів, повинна визначатися фахівцем у даній галузі. Терапевтично ефективна кількість може являти собою кількість, необхідну для лікування індивідуума в однократній дозі. Альтернативно терапевтично ефективна кількість може являти собою сукупну кількість дантролену, необхідну для лікування індивідуума протягом тривалого курсу лікування.

40 У варіантах здійснення, де індивідуумом є людина, ефективна кількість сполуки формули I або II являє собою кількість сполуки, еквівалентну від 1 мг/кг до 100 мг/кг дантролену, що вводиться в одній або кількох дозах. У інших аспектах ефективна кількість сполуки формули I або II еквівалентна від 1 мг/кг до приблизно 90 мг/кг дантролену. У інших аспектах ефективна кількість сполуки формули I або II еквівалентна від 1 мг/кг до приблизно 80 мг/кг дантролену. У інших аспектах ефективна кількість сполуки формули I або II еквівалентна від 1 мг/кг до приблизно 70 мг/кг дантролену. У інших аспектах ефективна кількість сполуки формули I або II еквівалентна від 1 мг/кг до приблизно 60 мг/кг дантролену. У інших аспектах ефективна кількість сполуки формули I або II еквівалентна від 1 мг/кг до приблизно 50 мг/кг дантролену. У інших аспектах ефективна кількість сполуки формули I або II еквівалентна від 1 мг/кг до приблизно 40 мг/кг дантролену. У інших аспектах ефективна кількість сполуки формули I або II еквівалентна від 1 мг/кг до приблизно 30 мг/кг дантролену. У інших аспектах ефективна кількість сполуки формули I або II еквівалентна від 1 мг/кг до приблизно 20 мг/кг дантролену. У інших аспектах ефективна кількість сполуки формули I або II еквівалентна від приблизно 5 мг/кг до приблизно 30 мг/кг дантролену. У інших аспектах ефективна кількість сполуки формули I або II еквівалентна від приблизно 10 мг/кг до приблизно 30 мг/кг дантролену. У інших аспектах ефективна кількість сполуки формули I або II еквівалентна від приблизно 15 мг/кг до приблизно 30 мг/кг дантролену. У інших аспектах ефективна кількість сполуки формули I або II еквівалентна від приблизно 20 мг/кг до приблизно 30 мг/кг дантролену. У інших аспектах ефективна кількість сполуки формули I або II еквівалентна від приблизно 5 мг/кг до приблизно 60 мг/кг дантролену. У інших аспектах ефективна кількість сполуки формули I або II

прийнятну сіль, вводять індивідууму через 1 годину або менше після впливу на індивідуума нервово-паралітичної речовини. У деяких аспектах щонайменше одну дозу фармацевтичної композиції, яка містить сполуку формули I або її фармацевтично прийнятну сіль, вводять індивідууму в межах приблизно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 або в межах приблизно 24 годин після впливу на індивідуума нервово-паралітичної речовини.

У деяких аспектах фармацевтична композиція, яка містить сполуку формули I або II або її фармацевтично прийнятну сіль, може доставляти ефективну кількість сполуки формули I або II індивідууму, підданому впливу нервово-паралітичної речовини, в одній дозі. Тим часом, в інших аспектах може бути необхідно дві або більше дози фармацевтичної композиції для доставки ефективної кількості сполуки формули I або II індивідууму, підданому впливу нервово-паралітичної речовини. Наприклад, може бути необхідно 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або 10 доз фармацевтичної композиції для доставки ефективної кількості сполуки формули I або II індивідууму, підданому впливу нервово-паралітичної речовини. Це додаткове дозування можна вводити по суті одночасно з першою дозою. У інших аспектах додаткове дозування відділене у часі від першої дози. У тих аспектах, в яких вводять 3 або більше дози, кожна доза може бути відділена за часом від введення будь-якої іншої дози. Інтервали між дозами можуть становити 1 або більше години, наприклад, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 або 24 годин. У інших аспектах інтервали між дозами можуть становити 1 або кілька діб.

Відповідно до винаходу, введення сполуки формули I або II індивідууму, підданому впливу нервово-паралітичної речовини, є допоміжною терапією при впливі нервово-паралітичної речовини. Індивідуумам, підданим впливу нервово-паралітичної речовини, також можна вводити один або кілька антидотів нервово-паралітичних речовин. Одним класом антидотів для впливу нервово-паралітичної речовини є реактиватори ацетилхолінестерази, наприклад, азоксиму хлорид (HI-6). Іншим класом антидотів для впливу нервово-паралітичної речовини є оборотні антагоністи рецепторів ацетилхоліну, наприклад, атропіну метилнітрат. Індивідуумам, підданим впливу нервово-паралітичних речовин, також можна вводити протисудомний лікарський засіб. Ілюстративні протисудомні лікарські засоби включають альдегіди (наприклад, паральдегід), ароматичні алілові спирти (наприклад, стирипентол), бензодіазепіни (наприклад, клобазам, клонезепам, клоразепат, діазепам, мідазолам, лоразепам, нітразепам, темазепам, німетазепам), барбітурати (наприклад, фенобарбітал, метилфенобарбітал, барбексаклон), броміди (наприклад, бромід калію), карбамати (наприклад, фелбамат), карбоксаміди (наприклад, карбамазепін, окскарбазепін, еспікарбазепіну ацетат), жирні кислоти (наприклад, вальпроєва кислота, вальпроат натрію, дивалпрекс натрій, вігабатрин, прогабід, тіагабін), топірамат, аналоги GABA (наприклад, габапентин, прегабалін), гідантоїни (наприклад, етотоїн, фенітоїн, мекфенітоїн, фосфенітоїн), оксазолідиндіони (наприклад, параметадіон, триметадіон, етадіон), пропіонати (наприклад, бекламід), піримідиндіони (наприклад, примідон), піролідини (наприклад, бриварацетам, левітирацетам, селетрацетам), сукцинімідиди (наприклад, етосуксимід, фенсуксимід, месуксимід), сульфонаміди (наприклад, ацетазоламід, султіам, метазоламід, зонісамід), триазини (наприклад, ламотригін), сполуки сечовини (наприклад, фенетурид, фенацемід), валпроїламідиди (наприклад, вальпроамід, валноктамід), перампанел і їх комбінації. У деяких аспектах протисудомний лікарський засіб являє собою бензодіазепін, наприклад, мідазолам. У інших аспектах протисудомний лікарський засіб являє собою барбітурат. У інших аспектах протисудомний лікарський засіб являє собою гідантоїн. У деяких аспектах протисудомний лікарський засіб являє собою паральдегід. У інших аспектах протисудомний лікарський засіб являє собою бромід калію. У деяких аспектах протисудомний лікарський засіб являє собою жирну кислоту. У інших аспектах протисудомний лікарський засіб являє собою топірамат.

У аспектах, де індивідууму, підданому впливу нервово-паралітичної речовини, вводять антидот, сполуку формули I або II вводять після введення антидоту. Наприклад, сполуку формули I або II можна вводити після введення реактиватора ацетилхолінестерази і/або після введення оборотного антагоніста рецепторів ацетилхоліну.

У аспектах, де індивідууму, підданому впливу нервово-паралітичної речовини, вводять протисудомний засіб, сполуку формули I або II можна вводити одночасно з введенням протисудомного засобу. Сполуку формули I або II можна вводити по суті одночасно із введенням протисудомного засобу, а також, наприклад, в межах приблизно 5 хвилин після введення протисудомного засобу. У інших варіантах здійснення сполуку формули I або II вводять до введення протисудомного засобу. У інших варіантах здійснення сполуку формули I або II вводять після введення протисудомного засобу.

Фармацевтичну композицію, яка містить сполуку формули I або II або її фармацевтично

прийнятну сіль, можна вводити внутрішньовенно. У інших аспектах фармацевтичну композицію, яка містить сполуку формули I або II або її фармацевтично прийнятну сіль, можна вводити трансдермальним шляхом. У інших аспектах фармацевтичну композицію, яка містить сполуку формули I або II або її фармацевтично прийнятну сіль, можна вводити внутрішньом'язово. У інших аспектах фармацевтичну композицію, яка містить сполуку формули I або II або її фармацевтично прийнятну сіль, можна вводити внутрішньокістковим шляхом. У інших аспектах фармацевтичну композицію, яка містить сполуку формули I або II або її фармацевтично прийнятну сіль, можна вводити підшкірно.

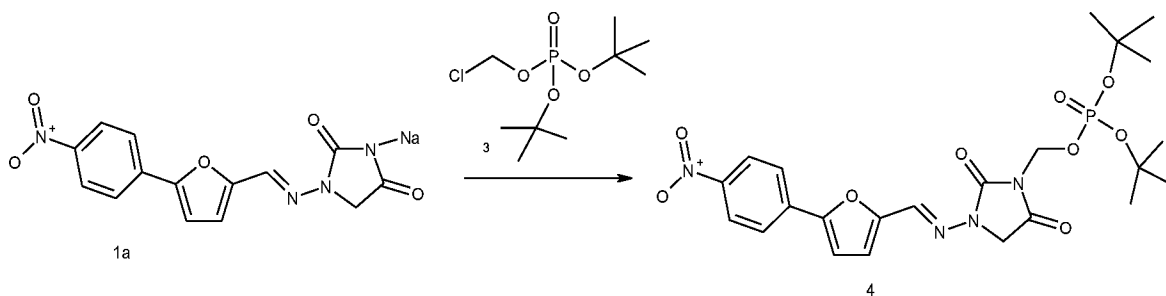
Переважні фармацевтичні композиції для застосування в описаних способах включають сполуку формули I або II або її фармацевтично прийнятну сіль, і один або кілька фармацевтично прийнятних ексципієнтів. Переважні фармацевтичні композиції містять сполуку формули I або II або її фармацевтично прийнятну сіль, маніт, полісорбат (наприклад, полісорбат 80), повідон (наприклад, повідон K12), необов'язковий засіб для корекції рН (наприклад, NaOH або HCl), і воду.

Відповідно до винаходу, введення сполуки і/або фармацевтичної композиції, як описано в даному описі, може забезпечувати по суті еквівалентну AUC у індивідуума порівняно з введенням еталонного продукту дантролену, такого як RYANODEX®. У інших аспектах введення сполуки і/або фармацевтичної композиції, як описано в даному описі, може забезпечувати по суті еквівалентну AUC у індивідуума порівняно з порівняльною композицією. Наприклад, в деяких аспектах при введенні індивідууму 90% довірчі інтервали (CI) відносного середнього значення $AUC_{(0-t)}$ і $AUC_{(0-\infty)}$ дантролену описаної фармацевтичної композиції може становити в межах від 80% до 125% (наприклад, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 105%, 110%, 115%, 120% або 125%) від відносного середнього значення $AUC_{(0-t)}$ і $AUC_{(0-\infty)}$, відповідно, дантролену при введенні еталонного продукту дантролену, наприклад, RYANODEX®. У деяких аспектах при введенні індивідууму 90% довірчі інтервали (CI) для відносного середнього значення $AUC_{(0-t)}$ і $AUC_{(0-\infty)}$ дантролену описаної фармацевтичної композиції знаходиться в межах від 80% до 125% (наприклад, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 105%, 110%, 115%, 120% або 125%) від відносних середніх значень $AUC_{(0-t)}$ і $AUC_{(0-\infty)}$, відповідно, дантролену при введенні порівняльного продукту.

Наведені нижче приклади надані для ілюстрації деяких з ідей, описаних в даному описі. Хоча вважається, що кожний приклад відповідає конкретним індивідуальним варіантам здійснення винаходу, жоден із прикладів не треба вважати таким, що обмежує більш загальні варіанти здійснення, описані в даному описі. У наведених нижче прикладах були зроблені спроби забезпечити точність чисел, що використовуються (наприклад, кількості, температура і т. д.), однак потрібно враховувати деяку експериментальну похибку і відхилення.

ПРИКЛАДИ

Приклад 1.



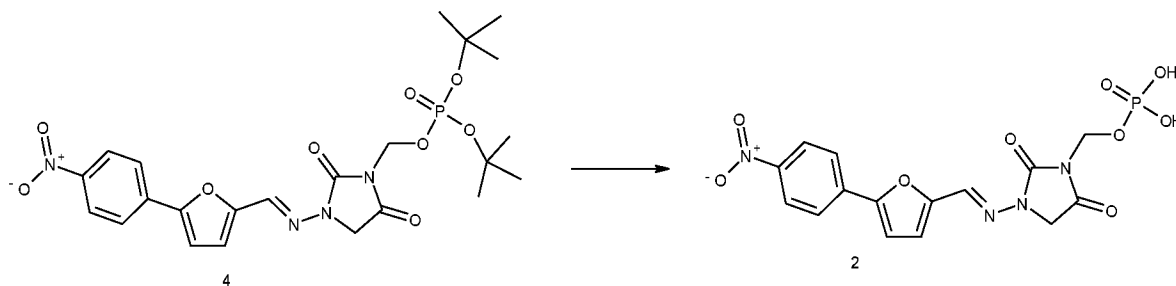
Натрій дантролен (1 екв.) розчиняли у безводному диметилформаміді. Додавали реагент 3 (1 екв.) і реакційну суміш перемішували при 60°C в атмосфері азоту. Через 4 год. додавали ще один еквівалент реагенту 3 і реакційну суміш перемішували при 60°C протягом ночі. Потім реакційну суміш розбавляли етилацетатом і промивали два рази насиченим хлоридом натрію. Шари розділяли. Органічні шари сушили над сульфатом натрію і концентрували у вакуумі. Неочищений продукт очищували з використанням хроматографії на силікагелі. Бажаний продукт виділяли з чистотою 90-95%. Дані ¹H-ЯМР узгоджувалися зі спрогнозованими для бажаного продукту.

Приклад 1, спосіб А: 1a, сушили з P₂O₅ протягом ночі. До суміші 1a (500 мг, 1,48 ммоль) в DMF (10 мл) додавали 3 (0,84 мл, 3,72 ммоль), а потім NaI (245 мг, 1,63 ммоль) при 0°C. Отриману суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 64 год. Суміш розбавляли

EtOAc (30 мл) і розсолем (20 мл). Органічний шар відділяли, промивали водою (2×15 мл), сушили над безводним Na₂SO₄, фільтрували і упарювали. Неочищений залишок очищували флеш-хроматографією (два рази), елюючи 0-10% MeOH/CH₂Cl₂ з отриманням бажаної сполуки 4 (355 мг, 45%) у вигляді жовтої твердої речовини.

5 Приклад 1, спосіб В: 1а сушили з P₂O₅ протягом ночі. До суміші 1а (8,0 г, 23,8 ммоль) в DMF (160 мл) додавали 3 (6,5 мл, 28,79 ммоль), а потім NaI (4,28 г, 28,55 ммоль) при кімнатній температурі. Отриману суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 40 год. Суміш розбавляли EtOAc (250 мл) і розсолем (60 мл). Органічний шар відділяли, промивали водою (2×75 мл), сушили над безводним Na₂SO₄, фільтрували і упарювали. Залишок розтирали з
10 CH₂Cl₂-гексаном з отриманням жовтої твердої речовини (~7 г). Цю тверду речовину очищували флеш-хроматографією (два рази, інактивованій SiO₂), елюючи 0-10% MeOH/CH₂Cl₂, з отриманням бажаної сполуки 4 (1,92 г, 15%) у вигляді жовтої твердої речовини.

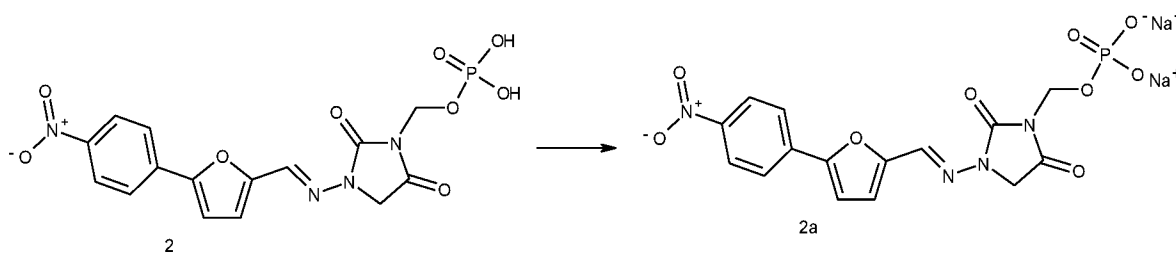
Приклад 2.



Зразок сполуки 4 обробляли 1 мл суміші 9/1 трифтороцтової кислоти/води протягом 20-30 хв. при температурі навколишнього середовища. Надлишок TFA відразу видаляли з використанням високого вакууму і отриману тверду речовину збирали фільтрацією, промивали водою (5 мл) і сушили повітрям. Вихідний матеріал, реакційну суміш і кінцевий продукт аналізували за допомогою LC/MS для визначення того, чи конвертується 2 назад дантролен в умовах видалення захисної групи. Не спостерігали зворотного конвертування 2 в дантролен. Дані ¹H-ЯМР продукту узгоджувалися зі спрогнозованими даними для бажаного продукту.

25 Приклад 2, спосіб А: до суміші 4 (886 мг, 1,65 ммоль) в CH₂Cl₂ (9 мл) додавали TFA (9 мл). Отриману суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 3 год. Розчинник випарювали на роторному випарнику до сухого стану. Отриманий залишок розтирали з гексаном протягом 1 год. і жовту тверду речовину фільтрували і сушили з отриманням бажаної сполуки 2 (660 мг, 94%).

30 Приклад 3.



50 мг 2 змішували з 3 мл метанолу (повне розчинення) і наносили на 1 г Na+ іонообмінної колонки. Сполуку елювали метанолом і після ліофілізації забезпечило 18 мг (вихід – 36%) оранжевої твердої речовини. Цей матеріал розчиняли у воді і обережно титрували до pH 8,5 додаванням невеликих аліквот 0,1 М NaOH, при перемішуванні. Потім розчин ліофілізували з отриманням оранжевої твердої речовини, сполука 2а. Дані LC/MS зразка до і після ліофілізації
40 були ідентичними, що вказує на те, що не відбувається зворотного конвертування в дантролен у ході іонного обміну. Дані ¹H-ЯМР продукту узгоджувалися зі спрогнозованими даними для бажаного продукту.

45 Приклад 3, спосіб А: до суспензії 2, що перемішується (500 мг, 1,17 ммоль), у воді (63 мл, категорія ВЕРХ) додавали 0,1 Н NaOH (23,6 мл, 2,34 ммоль) при кімнатній температурі аліквотами по 650 мкл, після чого відразу проводили швидке струшування доти, поки значення

pH не досягало 8,5. Розчин фільтрували і фільтрат ліофілізували протягом ночі з отриманням вказаної в заголовку сполуки 2a (530 мг, 96%) у вигляді жовтої твердої речовини. MS (CI) $m/z=424,9$ [M]⁺. ¹H NMR (300 МГц, D₂O): δ 8,08 (д, J=8,8 Гц, 2H), 7,72 (д, J=8,8 Гц, 2H), 7,59 (с, 1H), 6,98 (д, J=3,6 Гц, 1H), 6,86 (д, J=3,6 Гц, 1H), 5,19 (д, J=6,0 Гц, 2H), 4,32 (с, 2H).

5 Приклад 4. Конвертування 2a у дантролен з допомогою лужної фосфатази при 25°C
Інкубація з лужною фосфатазою

10 Проліки 2a інкубували з очищеною лужною фосфатазою при 25°C. Кінцева реакційна суміш містила приблизно 20 мкг/мл проліків і 50 мкО/мкл лужної фосфатази (з кишечника теляти, Sigma #11097075001) в 1X PBS, pH 7,4. Також отримували контрольну суміш, що містила 20 мкг/мл проліків без ферменту в 1X PBS pH 7,4. Реакційну суміш з ферментом зберігали при 25°C і аліквоти 10 мкл інжектували і аналізували за допомогою ВЕРХ через 0,9 год., 3,2 год., 5,5 год., 7,7 год. і 19,9 год. Контрольну суміш також зберігали при 25°C і аліквоти 10 мкл інжектували для аналізу за допомогою ВЕРХ через 1,5 год., 3,8 год., 6,6 год., 8,3 год. і 20,4 год.

Аналіз зразків за допомогою ВЕРХ

15 Аналіз проводили із використанням системи Waters 2695 Alliance System, обладнаної детектором PDA і колонкою Restek Ultra C18 (5 мкм, 250×4,6 мм), що підтримується при 25°C. Зразки аналізували з використанням градієнтного способу з рухомою фазою А, яка містила ацетонітрил, і рухомою фазою В, яка містила ацетонітрил:фосфатний буфер pH 6,9 33:67. Колонку урівноважували 100% рухомою фазою В, а потім тримали в цій композиції протягом 19
20 хв. Потім кількість рухомої фази А збільшували до 55% за 5 хв. Колонку промивали 55% А протягом 2 хв., повертали до 100% В протягом 2 хв., а потім повторно врівноважували 100% В протягом 5 хв. протягом загального часу 33 хв. 10 мкл зразка інжектували, і детекцію сполук, що аналізуються, проводили за допомогою УФ при 375 нм. Проліки елюювалися приблизно через 3,1 хвилини і дантролен елюювався приблизно через 15,4 хвилини. Проводили моніторинг зміни площі піку з плином часу для визначення конвертування проліків у дантролен.
25 Графіки для площі піку з плином часу подані на фіг. 1 і фіг. 2.

Приклад 5. Конвертування 2a у дантролен в плазмі щура при 22°C

Інкубація з плазмою

30 Експеримент *in vitro* проводили за допомогою додавання 40 мкл приблизно 10 мг/мл 2a, розчиненої в DMF, до 360 мкл попередньо замороженої плазми самців щурів Sprague Dawley при 22°C. Плазму з доданою сполукою зберігали при 22°C і аліквоти 50 мкл відбирали через 25 хв., 3 год. і 20 год. після додавання. Аліквоти відразу обробляли 50 мкл ацетонітрилу і перемішували струшуванням з подальшим центрифугуванням при 4000 об./хв. протягом 5 хв. при 25°C. 50 мкл супернатанту розбавляли 50 разів у суміші ацетонітрил:фосфатний буфер pH 6,9 33:67 і переносили в скляний флакон для аналізу за допомогою ВЕРХ.
35 Аналіз зразків за допомогою ВЕРХ

40 Аналіз проводили з використанням системи Waters 2695 Alliance System, обладнаної детектором PDA і колонкою Restek Ultra C18 (5 мкм, 250×4,6 мм), що підтримується при 25°C. Зразки аналізували з використанням градієнтного способу з рухомою фазою А, що містила ацетонітрил, і рухомою фазою В, що містила ацетонітрил:фосфатний буфер pH 6,9 33:67. Колонку врівноважували 100% рухомою фазою В, а потім тримали в цій композиції протягом 19 хв. Потім кількість рухомої фази А збільшували до 55% за 5 хв. Колонку промивали 55% А протягом 2 хв., повертали до 100% В протягом 2 хв., а потім повторно врівноважували 100% В протягом 5 хв. протягом загального часу 33 хв. 10 мкл зразка інжектували, і детекцію сполук, що аналізуються, проводили за допомогою УФ при 375 нм. Проліки елюювалися приблизно через 3,1 хвилини і дантролен елюювався приблизно через 15,4 хвилини. Проводили моніторинг зміни площі піку з плином часу для визначення конвертування проліків у дантролен.
45 Див. фіг. 3.

Приклад 6. Конвертування 2a у дантролен у плазмі при 37°C

Інкубація з плазмою

50 Експеримент *in vitro* проводили за допомогою додавання 60 мкл приблизно 10 мг/мл 2a, розчиненої в DMF, до 690 мкл попередньо замороженої плазми самців щурів Sprague Dawley при 37°C. Плазму з доданою сполукою зберігали при 37°C і аліквоти 50 мкл відбирали через 5, 10 хв., 20 хв., 30 хв., 40 хв., 50 хв., 60 хв., 100 хв., 2,5 год., 3,5 год., 4 год., 5 год. і 6,5 год. після додавання. Аліквоти відразу обробляли 50 мкл ацетонітрилу і перемішували струшуванням з подальшим центрифугуванням при 4000 об./хв. протягом 5 хв. при 25°C. 50 мкл супернатанту переносили у скляний флакон для аналізу за допомогою ВЕРХ.
55 Аналіз зразків за допомогою ВЕРХ

60 Аналіз проводили з використанням системи Waters 2695 Alliance System, обладнаної детектором PDA і колонкою Restek Ultra C18 (5 мкм, 250×4,6 мм), що підтримується при 25°C.

Зразки аналізували з використанням градієнтного способу з рухомою фазою А, що містила 0,1% трифтороцтову кислоту у воді, і рухомою фазою В, що містила 0,1% трифтороцтову кислоту в ацетонітрилі при швидкості потоку 1,0 мл/хв. Колонку врівноважували 67% рухомої фази А/33% рухомої фази В, а потім тримали в цій композиції протягом 19 хв. Потім кількість рухомої фази В збільшували до 70% за 5 хв. Колонку промивали 70% В протягом 2 хв., повертали до 33% В протягом 2 хв., а потім повторно врівноважували 33% В протягом 5 хв. протягом загального часу 47 хв. 5 мкл зразка інжектували, і детекцію сполук, що аналізуються, проводили за допомогою УФ при 375 нм. Проліки елюювалися приблизно через 6,5 хвилини і дантролен елюювався приблизно через 18,5 хвилини. Проводили моніторинг зміни площі піку з плином часу для визначення конвертування проліків у дантролен. Графік площі піку для проліків з плином часу поданий на фіг. 4.

Приклад 7. Біодоступність дантролену після введення 2а щурам
Способи

Сполуку 2а складають у концентрації 8 мг/мл у 5% водному розчині маніту (як модифікатора тонічності) при рН 8,0. Склад вводять в/в, п/ш або в/м канюльованим щурам Harlan Sprague Dawley (3 щури/групу) від Envigo RMS, Inc. (Indianapolis, IN). У кожній групі вводять 7,5 мг/кг 2а, що дорівнює 5 мг/кг еквівалентів дантролену (DE). Проводять взяття цільної крові (0,1 мл) через катетер у яремній вені через 0, 0,033 (тільки для в/в), 0,083, 0,167, 0,33, 0,66, 1, 3, 6 і 9 годин. Відразу після взяття 0,1 мл цільної крові додають до 0,3 мл ацетонітрилу для зупинки реакції біоконвертування проліків. Потім зразки вміщують на вологий лід до центрифугування для видалення преципітату. Преципітований матрикс цільної крові аналізують відносно 2а, дантролену і метаболіту 5-ОН дантролену з використанням колонки 4-мкм Polar RP 80Å, 75×2 мм Phenomenex Synergi на системі Waters Acquity UPLC, приєднаній до системи LC/MS/MS Applied Biosystems/MDS Sciex API 6500. Зразки кількісно визначають, виходячи зі стандартних кривих, отриманих для кожної сполуки, що аналізується, в преципітованому матриксі цільної крові.

Аналогічно, концентрацію дантролену в плазмі з плином часу визначають після введення Ryanodex внутрішньовенно щурам в дозі 5 мг кг⁻¹. Оскільки Ryanodex являє собою 3,5 гідрат дантролену натрію, це еквівалентно дозі 3,9 мг кг⁻¹ дантролену на молярній основі (тобто 3,9 мг кг⁻¹ еквівалентів дантролену (DE)).

Площу під кривою (AUC) обчислюють із використанням правила трапеції з використанням програмного забезпечення SigmaPlot 12.5.

Результати

Введення 2а щурам в/в, в/м і п/ш шляхом приводить до швидкої появи дантролену в крові.

Приклад 8. Біодоступність дантролену після введення сполук за винаходом щурам
Способи

Сполуку за винаходом складають у 5% водному розчині маніту (як модифікатора тонічності). Склад вводять в/в, п/ш або в/м канюльованим щурам Harlan Sprague Dawley (3 щури/групу) від Envigo RMS, Inc. (Indianapolis, IN). У кожній групі вводять кількість, еквівалентну 5 мг/кг еквівалентів дантролену (DE). Проводять взяття цільної крові (0,1 мл) через катетер в яремній вені через 0, 0,033 (тільки для в/в), 0,083, 0,167, 0,33, 0,66, 1, 3, 6 і 9 годин. Відразу після взяття 0,1 мл цільної крові додають до 0,3 мл ацетонітрилу для зупинки реакції біоконвертування проліків. Потім зразки вміщують на вологий лід до центрифугування для видалення преципітату. Преципітований матрикс цільної крові аналізують відносно вихідних проліків, дантролену і метаболіту 5-ОН дантролену з використанням колонки 4-мкм Polar RP 80Å, 75×2 мм Phenomenex Synergi на системі Waters Acquity UPLC, приєднаній до системи LC/MS/MS Applied Biosystems/MDS Sciex API 6500. Зразки кількісно визначають, виходячи зі стандартних кривих, отриманих для кожної сполуки, що аналізується, в преципітованому матриксі цільній крові.

Аналогічно, концентрацію дантролену в плазмі з плином часу визначають після введення Ryanodex внутрішньовенно щурам в дозі 5 мг кг⁻¹. Оскільки Ryanodex являє собою 3,5 гідрат дантролену натрію, це еквівалентно дозі 3,9 мг кг⁻¹ дантролену на молярній основі (тобто 3,9 мг кг⁻¹ еквівалентів дантролену (DE)).

Площу під кривою (AUC) обчислюють з використанням правила трапеції з використанням програмного забезпечення SigmaPlot 12.5.

Результати

Введення сполук за винаходом щурам в/в, в/м і п/ш шляхом приводить до швидкої появи дантролену в крові.

Приклад 9

Огляд дослідження

Задачею дослідження є визначення того, чи має сполука за винаходом (наприклад, сполука 2а) нейропротективні ефекти в моделі виживання у ссавців, наприклад, собак, свиней, кроликів, гризунів (наприклад, щурів, мишей, морських свинок) і приматів (наприклад, мавпи, шимпанзе). Однією з ілюстративних моделей є модель виживання у щурів при введенні GD (зоман).

5 Однократні дози сполуки за винаходом вводять після початку індукованих нервово-паралітичною речовиною судом. Наприклад, вводять однократні дози сполуки, еквівалентні від 1 мг/кг до 30 мг/кг дантролену (наприклад, 10 мг/кг або 30 мг/кг). Введення сполуки за винаходом можна провести внутрішньовенно, підшкірно, внутрішньом'язово, трансдермальним шляхом, внутрішньокістковим шляхом. Наприклад, дозу можна вводити внутрішньовенно.

10 Виживанню можна сприяти за допомогою введення антидоту нервово-паралітичної речовини. Наприклад, азоксиму хлорид (HI-6) можна вводити до впливу нервово-паралітичної речовини, наприклад, за тридцять хвилин до підшкірної ін'єкції (п/ш) зоману, атропіну метилнітрат можна вводити через одну хвилину після п/ш ін'єкції зоману і мідазолам можна вводити через двадцять хвилин після початку індукованих зоманом судом, які досягають показника Racine щонайменше 3.

15 Контролі включають одну групу тварин без введення (наївні), а в іншій групі вводять стерильну воду після початку індукованих нервово-паралітичною речовиною судом (наприклад, через 50 хвилин після початку індукованих нервово-паралітичною речовиною судом).

20 Проводять серію нейроповедінкових тестів протягом певного періоду часу, наприклад, приблизно через 28 діб після впливу однократної дози нервово-паралітичної речовини. Через день після періоду тестування (наприклад, на 29 добу) всіх тварин умертвляють під анестезією, наприклад, за допомогою кровопускання або інтракардіальної перфузії. Головний мозок витягують з кожної тварини для мікроскопічної оцінки нейропатології, і серце витягують з кожної тварини для дослідження можливої патології.

25 Матеріали

Зоман (GD) – розбавлений 0,9% хлоридом натрію. Зоман являє собою фосфорорганічну нервово-паралітичну речовину, яка інактивує ацетилхолінестеразу (AChE) шляхом утворення аддукту з ферментом.

30 - Хімічна назва: пінаколілметилфосфонофлуоридат

- Формула: $C_7H_{16}FO_2P$

- Молекулярна маса: 182,17

- MRIGlobal партія #: GD090415-DOC-1

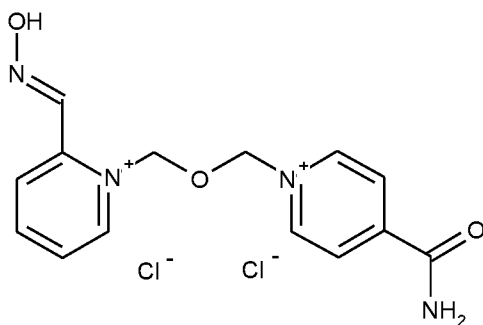
- ID первинного стандарту: 13972-49-3

- Чистота: 100%

35 - Умови зберігання < 4°C

HI-6: Хімічна назва: [(E)-[1-[(4-карбамоїлпіридин-1-ій-1-іл)метоксиметил]піридин-2-іліден]метил]оксоазанію метансульфонат (азоксиму хлорид)

Структура:



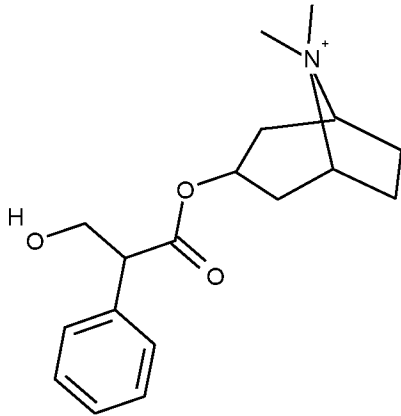
40

Формула: $C_{14}H_{16}Cl_2N_4O_3$

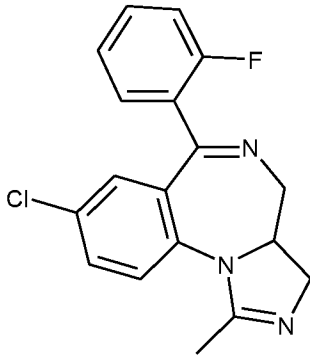
Молекулярна маса: 359,207

45 Атропіну метилнітрат: Хімічна назва: (8,8-диметил-8-азоніабіцикло[3.2.1]октан-3-іл) 3-гідрокси-2-фенілпропаноату нітрат

Структура:



- 5 **Формула:** C₁₈H₂₆N₂O₆
Молекулярна маса: 366,414
Мідазолам: хімічна **назва:** 8-хлор-6-(2-фторфеніл)-1-метил-4Н-імідазо[1,5-
а][1,4]бензодіазепін
Структура:



- 10 **Формула:** C₁₈H₁₃ClFN₃
Молекулярна маса: 325,771
Дози
15 HI-6, зоман, атропіну метилнітрат і мідазолам: можуть бути вибрані однократні дози HI-6 (в/ч, 125 мг/кг); зоману (п/ш, 154 мкг /кг, 1,4×LD₅₀), атропіну метилнітрату (в/м, 2 мг/кг) і мідазоламу (в/м, 2 мг/кг). Очікується, що цей режим викличе судоми, які досягнуть показника Racine щонайменше 3 і прийнятної кількості тих, що вижили, для випробування для спостереження.
20 **Сполуки за винаходом:** можна вводити сполуку за винаходом або її фармацевтично прийнятну сіль, як описано в даному описі. Переважною сполукою є сполука 2a.
Отримання дози
У експериментах з використанням GD, GD отримують в крижаному 0,9% хлориді натрію згідно з «SOP MRI-5821 Preparation of Standards and Samples from Research Development and Testing Evaluation (RDTE) Dilute Solutions».
25 **Шкала Racine**
1=знерухомлення і погляд впритул
2=кивання головою, «обтрушування мокрої собаки»
3=клонус передньої кінцівки
4=двосторонній клонус передніх кінцівок
30 5=двосторонній клонус передніх кінцівок, підняття на задні кінцівки і втрата рівноваги
Нейроповедінкові тести
Ділянки головного мозку, які пошкоджуються в результаті впливу зоману, можуть включати гіпокомп і енторинальну, лобну і тім'яну кору. Ці ділянки містять структури і нервові ланцюги для навчання, формування спогадів, переробки інформації й інших когнітивних процесів. Для оцінки потенційних нейропротективних ефектів сполуки за винаходом тварину оцінюють з використанням серії поведінкових тестів, які задіюють навчання, пам'ять, сенсорно-моторну

інтеграцію і адаптивні відповіді. Приклади таких тестів включають: 1) тест на перевагу сахарози і 2) тест примусового плавання.

Тест на перевагу сахарози

У тесті на перевагу сахарози (SPT) використовується природна схильність щурів віддавати перевагу солодкій воді над звичайною водою. Він є загальноприйнятим тестом для визначення поведінки прагнення задоволення (гедонія) або його відсутності (ангедонія) і вимагає, щоб тварина пристосовувалася до зміни розміщення зліва або справа пляшок, які містять водопровідну воду і воду з 1% сахарозою.

Щурів утримують окремо з доступом до їжі і води без обмежень (одна пляшка води в кожній клітці) перед SPT. Для акліматизаційної частини SPT 2 пляшки води вміщують у домашню клітку кожного зі щурів на 5-6 діб. Пляшки з водою обладнані напувалками, які мінімізують протікання, і їх зважують приблизно кожні 24 години. Після фази акліматизації одну пляшку для води заповнюють приблизно 200 мл 1% розчину сахарози, а іншу пляшку заповнюють приблизно 200 мл водопровідної води. Через двадцять чотири години кількість рідини, що залишилася в кожній пляшці, реєструють. Розміщення пляшок зліва/справа потім міняють і кількість рідини, що залишилася в кожній пляшці, знову реєструють через двадцять чотири години. Кількість (мл) вжитого розчину сахарози виражають як процент від загального об'єму вжитої рідини (вода з сахарозою плюс вода) протягом кожного з двох періодів по 24 години і порівнюють по групах і добах.

Тест примусового плавання

Тест форсованого плавання (FST) був розроблений Porsolt в пізні 1970-ті як швидкий спосіб скринінгу ефективності антидепресантних лікарських засобів у гризунів. Збільшена знерухомленість, яка виникає в кінці 5-хвилинного FST у гризунів без лікування («нормальних») інтерпретувалася як «поведінковий відчай» і вона поверталася назад антидепресантними лікарськими засобами, що корелювало з антидепресантною ефективністю цих засобів у людей. Однак конструктивна валідність цього тесту була піддана сумніву з багатьох причин, що включають: 1) в FST тестуються гострі ефекти антидепресантів, в той час як у пацієнтів з клінічною депресією лікарські засоби потребують 4-6 тижнів для клінічного поліпшення; 2) залежною змінною в FST є гостра відповідь тварини на тест і не характеристики тварини; і 3) інтерпретація поведінки плавання як «поведінковий відчай» є антропоморфічною. Зараз вважається, що прогресуюча знерухомленість, що спостерігається у щурів без лікування, відображає адаптивну відповідь на гострий стрес внаслідок вміщення у контейнер без можливості вибратися.

При FST активність плавання і знерухомленість визначають у скляній циліндричній камері (46 см Н×30 см D), заповненою водою (висота 30 см, 25°C). Термометри використовують, щоб пересвідчитися в тому, що температура води є постійною 24-26°C для всіх тварин. Проводять два сеанси плавання, один як первинний «попередній тест» протягом 15 хв., за яким слідує другий «тест» протягом 5 хв. через 24 години. Сеанси тесту реєструють на відео. Час, витрачений на активне плавання, і час, витрачений в знерухомленому стані, оцінюють для кожної хвилини FST.

Нейропатологія

7 зрізів головного мозку кожної тварини оцінюють мікроскопічно з використанням напівкількісної оцінної системи з 6 точок. Мікроскопічні вогнища пошкодження оцінюють за шкалою з 6 точок:

0=норма

1=1-5 уражених клітин на мікроскопічне поле 40X

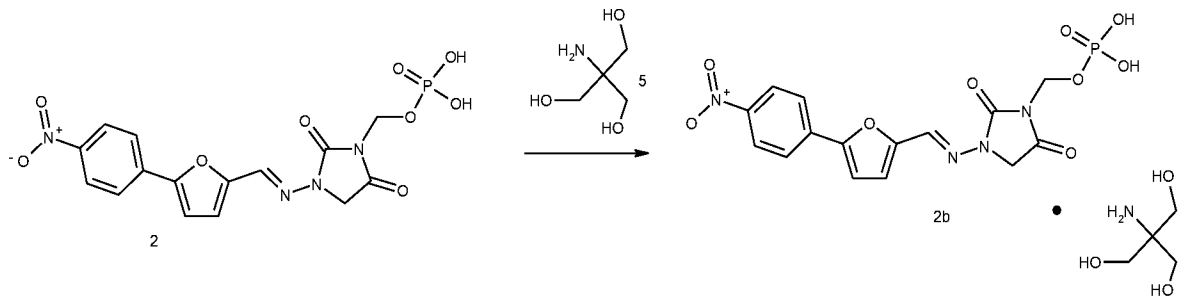
2=6-20 уражених клітин на мікроскопічне поле 40X

3=21-50 уражених клітин на мікроскопічне поле 40X

4=50%-80% уражених клітин на мікроскопічне поле 40X

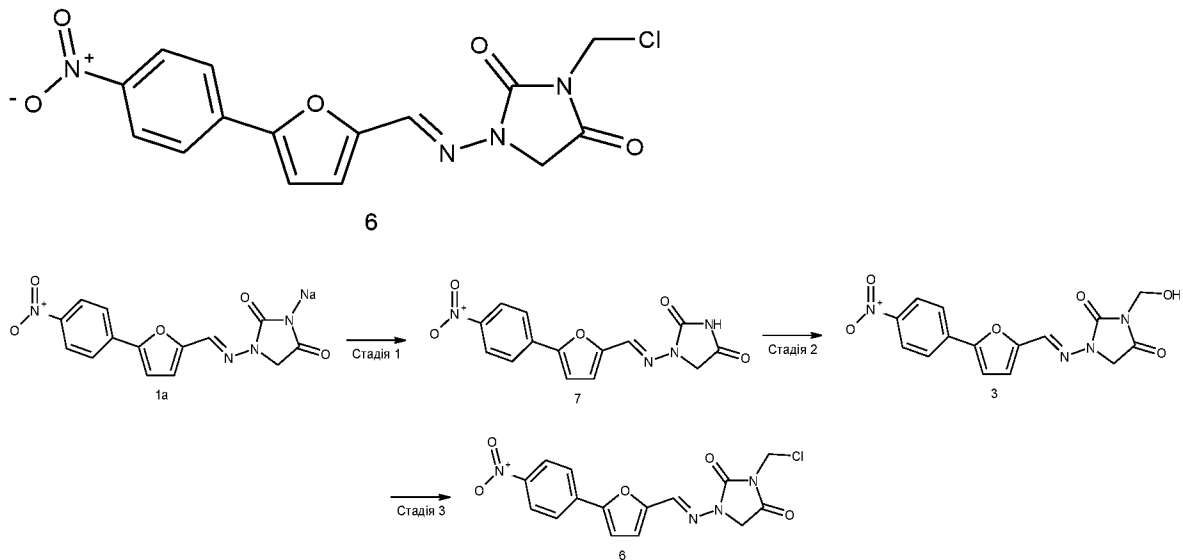
5 = >80% уражених клітин на мікроскопічне поле 40X

Приклад 10. Отримання 2b



До суспензії 2, що перемішується (100 мг, 0,23 ммоль), у воді (12 мл, категорія ВЕРХ) краплинно додавали Tris (5, 57 мг, 0,47 ммоль), розчинений у воді (5 мл), при кімнатній температурі. Значення рН кінцевого розчину становило 6,6. Розчин фільтрували і фільтрат ліофілізували протягом ночі з отриманням вказаної в заголовку сполуки 2b (150 мг, 95%) у вигляді жовтої твердої речовини. MS (CI) $m/z=424,9$ [M]⁺. ¹H-ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆): δ 8,24 (м, 2H), 7,93 (м, 2H), 7,73 (м, 1H), 7,12 (м, 1H), 6,97 (м, 1H), 5,20 (м, 2H), 4,40 (м, 2H), 3,63 (м, 15 H).

Приклад 11.

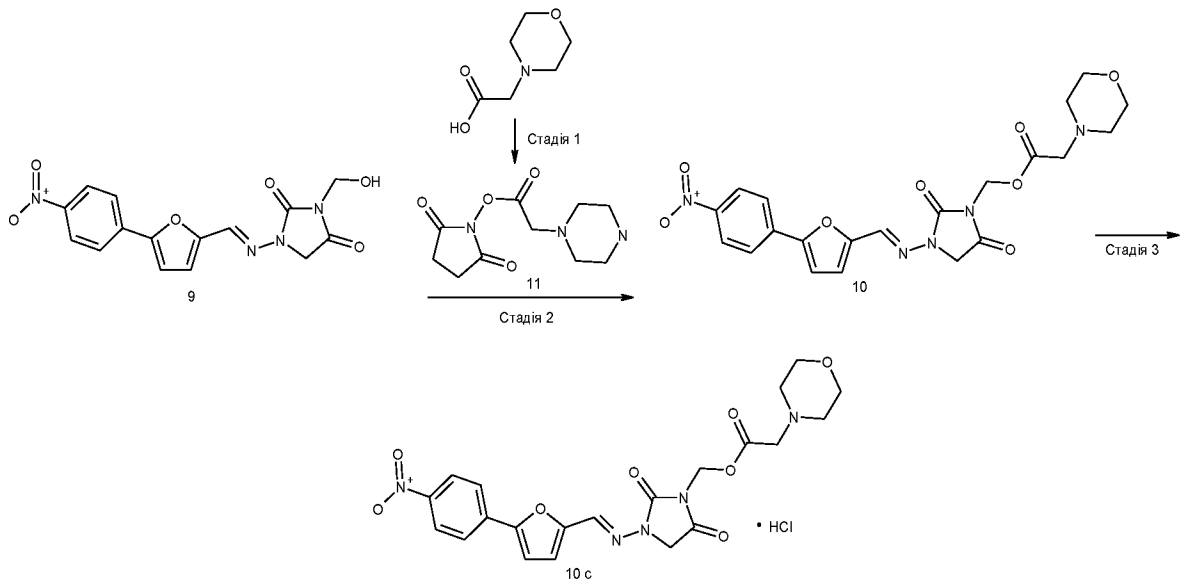


Стадія 1: 1a сушили з P₂O₅ протягом ночі. До суміші 1a (1,0 г, 2,97 ммоль) в DMF (20 мл) додавали крижану оцтову кислоту (340 мкл, 5,95 ммоль) при кімнатній температурі. Суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі. Суміш переливали на роздроблений лід, тверду речовину відфільтровувати і промивали водою. Отриману вологу тверду речовину сушили над безводним P₂O₅ протягом ночі з отриманням бажаної сполуки 7 (920 мг, 98%) у вигляді жовтої твердої речовини.

Стадія 2: до суспензії 7 (1,35 г, 4,29 ммоль) у воді (45 мл) додавали формалін (4,35 мл, 57,45 ммоль, 37% формальдегід у воді), а потім K₂CO₃ (51 мг, 0,37 ммоль). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 24 год. Реакційну суміш фільтрували і жовту тверду речовину промивали 3% водним розчином формальдегіду і сушили повітрям протягом 24 год. з отриманням бажаної сполуки 9 (1,2 г, 82%).

Стадія 3: До розчину 9 (615 мг, 1,78 ммоль) в суміші DMF:ацетон (40 мл, 15:25 мл) повільно додавали PCl₃ (1,2 мл, 13,71 ммоль) при 0°C. Реакційну суміш перемішували протягом 10 хв. при 0°C і протягом 2 год. при кімнатній температурі. Потім суміш переливали на роздроблений лід і отриману тверду речовину відфільтровувати, промивали водою (3×50 мл) і сушили над P₂O₅ у вакуумі протягом 16 год. з отриманням бажаної сполуки 6 (600 мг, 92%). ¹H-ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆): δ 8,33 (д, J=8,5 Гц, 2H), 8,03 (д, J=8,8 Гц, 2H), 7,87 (с, 1H), 7,48 (д, J=3,3 Гц, 1H), 7,11 (д, J=3,6 Гц, 1H), 5,42 (с, 2H), 4,53 (с, 2H).

Приклад 12.



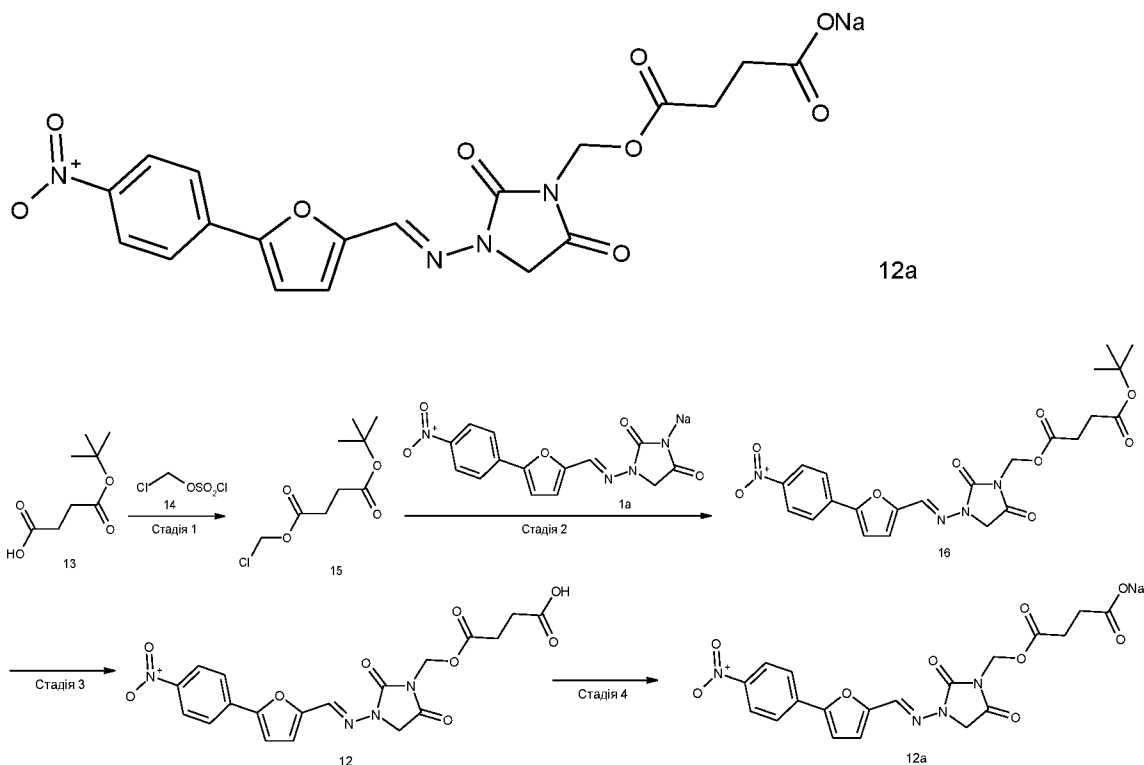
5 СТАДІЯ 1: Безводний DMF (0,8 мл, 10,33 ммоль) розчиняли в безводному тетрагідрофурані (13 мл). Цей розчин краплинно додавали до розчину, що перемішується, тіонілхлориду (0,75 мл, 10,33 ммоль) в тетрагідрофурані (9 мл) і охолоджували на крижаній бані. Після повного додавання і 30 хвилин на льоду крижану баню видаляли і додавали твердий N-гідроксисукцинімід (832 мг, 7,23 ммоль) (який повністю розчинявся), а потім відразу додавали тверду попередньо порошковану морфоліноцтову кислоту (1,0 г, 6,88 ммоль).
 10 Морфоліноцтова кислота розчинялася повільно з утворенням однорідного розчину, який швидко ставав каламутним. Реакційну суміш залишали енергійно перемішуватися у плинні при кімнатній температурі. Білу тверду речовину промивали тетрагідрофураном і сушили у вакуумі з отриманням бажаної сполуки 11 (1,6 г, 96%) у вигляді білої твердої речовини.

15 СТАДІЯ 2: до розчину 9 (660 мг, 1,92 ммоль) і 11 (928 мг, 3,83 ммоль) у безводному DMF (12 мл) додавали триетиламін (0,39 мл, 2,8 ммоль). Отриману суміш перемішували протягом ночі при 60°C. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і очищували обернено-фазовою колонковою хроматографією з використанням суміші ацетонітрил-вода як елюента. Фракції колонки аналізували за допомогою ВЕРХ і фракції, що містили продукт, ліофілізували з отриманням неочищеної сполуки, що мала чистоту 50%. Цей неочищений продукт знову очищували за допомогою препаративної ВЕРХ з використанням суміші ацетонітрил-вода. Ліофілізація очищених фракцій дала вказану в заголовку сполуку 10 (100 мг, 10%) у вигляді жовтої твердої речовини.

25 СТАДІЯ 3: До розчину 10, що перемішується (75 мг, 0,16 ммоль), в безводному 1,4-діоксані (4 мл) додавали HCl (0,3 мл, 4 Н в 1,4-діоксані) при кімнатній температурі і отриману суміш перемішували протягом 2 год. Розчинники випарювали на роторному випарнику до сухого стану. Отриманий залишок розчиняли у воді і ліофілізували протягом ночі з отриманням 10с (75 мг, 94%).

30 MS (CI) $m/z=472,1$ [M]⁺. ¹H-ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆): δ 8,33 (д, J=8,8 Гц, 2H), 8,03 (д, J=9,1 Гц, 2H), 7,89 (с, 1H), 7,49 (д, J=3,6 Гц, 1H), 7,11 (д, J=4,1 Гц, 1H), 5,60 (с, 2H), 4,54 (с, 2H), 3,32-3,81 (м, 10H). ¹H NMR (300 МГц, D₂O): δ 8,17 (д, J=8,5 Гц, 2H), 7,81 (д, J=8,8 Гц, 2H), 7,60 (с, 1H), 6,93-7,02 (м, 1H), 6,88-6,92 (м, 1H), 5,73 (с, 2H), 4,39 (с, 2H), 4,26 (с, 2H), 3,90-4,09 (м, 4H), 3,30-3,52 (м, 4H).

Приклад 14.



5

СТАДІЯ 1: До суміші K_2CO_3 (4,0 г, 28,94 ммоль) і $TBAHSO_4$ (240 мг, 0,70 ммоль) у воді (8 мл) додавали 13 (2,0 г, 11,48 ммоль) в CH_2Cl_2 (8 мл) при $0^\circ C$. Отриману суміш перемішували протягом 20 хв. при $0^\circ C$, а потім додавали 14 (1,3 мл, 12,85 ммоль) і знову перемішували протягом 3 год. Органічний шар відділяли і промивали водою (2×5 мл) і насиченим водним розсолем (5 мл). Шар CH_2Cl_2 сушили над безводним Na_2SO_4 , фільтрували і концентрували у вакуумі. Неочищений залишок очищували флеш-хроматографією, елюючи 0-100% EtOAc/гексаном з отриманням бажаної сполуки 15 (2,2 г, 86%) у вигляді безбарвної камеди.

10

СТАДІЯ 2: 1a сушили з P_2O_5 протягом ночі. До суміші 15 (2,2 г, 9,87 ммоль) в DMF (35 мл) додавали 1a (1,66 г, 4,93 ммоль) при кімнатній температурі. Отриману суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 20 год. Суміш розбавляли EtOAc (50 мл) і промивали водою (2×25 мл) і насиченим водним розсолем (15 мл). Шар EtOAc сушили над безводним Na_2SO_4 , фільтрували і упарювали у вакуумі. Неочищений залишок очищували флеш-хроматографією, елюючи 0-100% EtOAc/ CH_2Cl_2 (два рази) з подальшим розтиранням з CH_2Cl_2 -гексаном з отриманням бажаної сполуки 16 (500 мг, 20%) у вигляді жовтої твердої речовини.

15

20

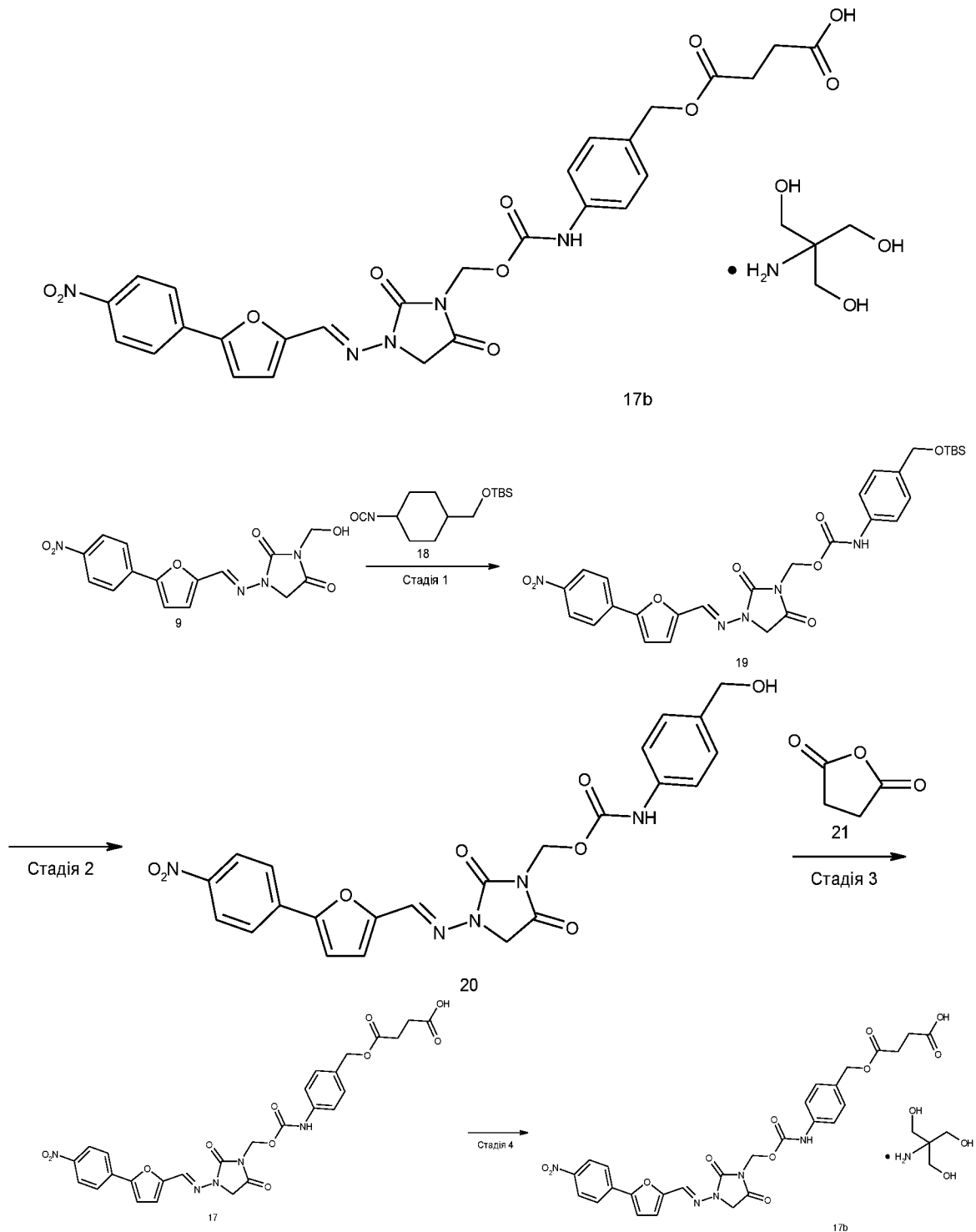
СТАДІЯ 3: до суміші 16 (340 мг, 0,68 ммоль) в CH_2Cl_2 (18 мл) додавали TFA (1,8 мл). Отриману суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі. Розчинники випарювали на роторному випарнику до сухого стану. Отриманий залишок розтирали з гексаном протягом 1 год. і жовту тверду речовину відфільтрувати і сушили з отриманням бажаної сполуки 12 (300 мг, 99%).

25

СТАДІЯ 4: До суспензії 6, що перемішується, (260 мг, 0,58 ммоль) у воді (36 мл, категорія ВЕРХ) додавали 0,1 N NaOH (5,85 мл, 0,58 ммоль) при кімнатній температурі аліквотами по 400 мкл, а відразу після цього проводили швидке струшування. Значення рН кінцевого розчину становило 6,73. Розчин фільтрували і фільтрат ліофілізували протягом ночі з отриманням вказаної в заголовку сполуки 12a (150 мг, 55%) у вигляді жовтої твердої речовини. MS (CI) $m/z=445,1 [M]^+$. 1H -ЯМР (300 МГц, $DMSO-d_6$): δ 8,34 (д, $J=8,8$ Гц, 2H), 8,04 (д, $J=8,8$ Гц, 2H), 7,87 (с, 1H), 7,49 (д, $J=3,6$ Гц, 1H), 7,11 (д, $J=3,8$ Гц, 1H), 5,43 (с, 2H), 4,51 (с, 2H), 2,40 (м, 2H), 2,15 (м, 2H).

30

Приклад 15.



СТАДІЯ 1: До розчину сполука 9 (500 мг, 1,45 ммоль) в безводному DMF (10 мл) додавали сполуку 18 (488 мг, 1,85 ммоль) в DMF (2 мл), а потім TEA (0,3 мл, 2,2 ммоль). Отриману суміш перемішували протягом 16 год. при кімнатній температурі. Суміш розбавляли EtOAc (50 мл), промивали водою (2×15 мл). Органічний шар сушили над безводним Na₂SO₄, фільтрували і упарювали до сухого стану. Неочищений продукт очищували два рази флеш-хроматографією, елюючи 0-10% MeOH/CH₂Cl₂, з отриманням бажаної сполуки 19 (350 г, 40%) у вигляді жовтої твердої речовини.

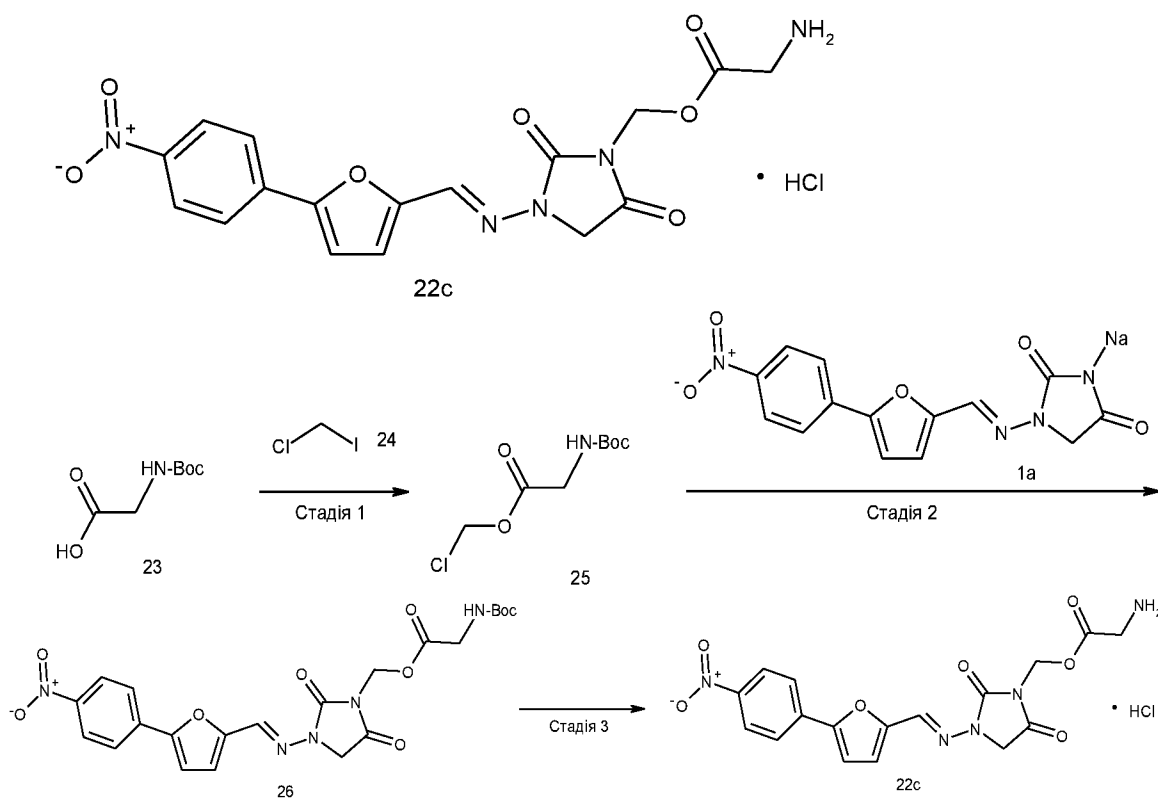
СТАДІЯ 2: До розчину сполуки 19 (200 мг, 0,32 ммоль) в суміші MeOH:1,4-діоксан (1:1, 6 мл) додавали моногідрат п-толуолсульфонової кислоти (63 мг, 0,32 ммоль). Прозорий розчин перемішували протягом 16 год. при кімнатній температурі. Розчинники випарювали на роторному випарнику до сухого стану. Залишок очищували флеш-хроматографією, елюючи

0-10% MeOH/CH₂Cl₂, з отриманням бажаної сполуки 20 (125 г, 77%) у вигляді жовтої твердої речовини.

СТАДІЯ 3: До розчину сполуки 20 (120 мг, 0,24 ммоль) і сполуки 21 (26,4 мг, 0,26 ммоль) в суміші м-ксилол:1,4-діоксан (1:1, 16 мл) додавали моногідрат п-толуолсульфонової кислоти (15 мг, 0,07 ммоль) і молекулярні сита 4Å (100 мг). Отриману суміш кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 16 год. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, розбавляли 1,4-діоксаном (30 мл) і фільтрували. Фільтрат випарювали і неочищений залишок очищували два рази флеш-хроматографією, елюючи 0-10% MeOH/CH₂Cl₂, з отриманням бажаної сполуки 17 (16 мг, 11%) у вигляді жовтої твердої речовини.

СТАДІЯ 4: До суспензії 17, що перемішується (5 мг, 8,4 мкмоль), у воді (3 мл, категорія ВЕРХ) краплинно додавали 0,1 N Tris (90 мкл, 8,9 мкмоль) при кімнатній температурі. Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 3 год. Розчин фільтрували і фільтрат ліофілізували протягом ночі з отриманням вказаної в заголовку сполуки 17b (6 мг, 100%) у вигляді жовтої твердої речовини. MS (CI) m/z=594,1 [M]⁺. ¹H-ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆): δ 9,96 (ушир. с, 1H), 8,34 (д, J=8,8 Гц, 2H), 8,05 (д, J=8,5 Гц, 2H), 7,89 (с, 1H), 7,5 (д, J=3,2 Гц, 1H), 7,46 (д, J=8,8 Гц, 2H), 7,29 (д, J=8,5 Гц, 2H), 7,12 (д, J=3,5 Гц, 1H), 5,57 (с, 2H), 4,99 (с, 2H), 4,55 (с, 2H), 3,23-3,32 (м, 9H), 2,33-2,36 (м, 4H).

Приклад 16.



СТАДІЯ 1: до суміші 23 (2,5 г, 14,28 ммоль) в DMF (30 мл) додавали триетиламін (3,47 мл, 24,93 ммоль), а потім 24 (3,92 мл, 53,9 ммоль) при кімнатній температурі. Отриману суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 40 год. Суміш розбавляли EtOAc (100 мл) і водою (50 мл). Шар EtOAc промивали водою (2×25 мл), 5% NaHCO₃ (25 мл) і насиченим водним розсолем (15 мл). Шар EtOAc сушили над безводним Na₂SO₄ і концентрували у вакуумі. Неочищений залишок очищували флеш-хроматографією, елюючи 0-100% EtOAc/гексаном, з отриманням бажаної сполуки 25 (657 мг, 21%) у вигляді безбарвного масла.

СТАДІЯ 2: 1a сушили з P₂O₅ протягом ночі. До суміші 1a (647 мг, 1,92 ммоль) в DMF (12 мл) додавали 25 (647 мг, 2,89 ммоль) при кімнатній температурі. Отриману суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 110 год. Суміш розбавляли EtOAc (40 мл), промивали водою (2×15 мл) і насиченим водним розсолем (15 мл). Шар EtOAc сушили над безводним Na₂SO₄, фільтрували і упарювали у вакуумі. Неочищений залишок очищували флеш-хроматографією, елюючи 0-100% EtOAc/CH₂Cl₂, з отриманням бажаної сполуки 26 (260 мг, 27%) у вигляді жовтої твердої речовини.

СТАДІЯ 3: До розчину 26, що перемішується (210 мг, 0,41 ммоль), в безводному 1,4-діоксані (4 мл) додавали HCl (4 мл, 4 Н в 1,4-діоксані) при кімнатній температурі і отриману суміш перемішували протягом ночі. Розчинники випарювали на роторному випарнику до сухого стану. Отриманий залишок розтирали з гексаном протягом 1 год. і жовту тверду речовину

5 фільтрували і сушили з отриманням вказаної в заголовку сполуки 22с (153 мг, 83%). MS (CI) $m/z=402,1 [M]^+$. $^1\text{H-NMR}$ (300 МГц, DMSO- d_6): δ 8,47 (ушир. с, 3H), 8,34 (д, J=8,8 Гц, 2H), 8,04 (д, J=8,8 Гц, 2H), 7,91 (с, 1H), 7,50 (д, J=3,6 Гц, 1H), 7,12 (д, J=3,6 Гц, 1H), 5,61 (с, 2H), 4,56 (с, 2H), 3,85 (с, 2H).

Приклад 17. Основні матеріали і способи UPLC

10 Аналіз LC-MS проводили з використанням системи рідинної хроматографії Agilent 1290 Infinity II Ultra Performance Liquid Chromatography System, обладнаної колонкою Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 Column (2,1×50 мм, 1,8 мкм). Моніторинг елюювання проводили при 210 нм і 385 нм з використанням детектора діодних матриць. Рухома фаза А являла собою воду з 0,1% (об./об.) трифтороцтовою кислотою, і рухома фаза В являла собою ацетонітрил з 0,1%

15 трифтороцтовою кислотою. Для кожного зразка ін'єктували 10 мкл і елюювання проводили з використанням лінійного градієнта, який починався з 25% В і зростав до 43% В протягом 4 хвилин при швидкості потоку 0,5 мл/хв. Система рідинної хроматографії була приєднана до триквадрупольного мас-спектрометра Agilent 6420.

Стандартні криві ВЕРХ для вимірювання концентрації

20 Приблизно 1 мг сполуки, яка становить інтерес, зважували і розчиняли до 1 мг/мл з використанням 25% ацетонітрилу (у воді об./об.). Проводили 10-кратне розбавлення проліків з використанням 25% ацетонітрилу з отриманням розчину 100 мкг/мл розчин. Серію 2-кратного розбавлення з використанням 25% ацетонітрилу проводили для отримання розчинів 50, 25, 12,5 і 6,25 мкг/мл. Для кожного зразка аналізували 10 мкл з використанням обладнання і

25 градієнта, описаних в розділі «Основні матеріали і способи UPLC». Стандартну криву для концентрації будували вручну, інтегруючи хроматограми при 385 нм і будуючи графік площі піку залежно від концентрації.

Фармакокінетичний аналіз

30 У кожний заданий момент часу проводили взяття 400 мкл в пробірку K2EDTA, а потім вміщували на лід до центрифугування. Після центрифугування 100 мкл плазми комбінували з 300 мкл ацетонітрилу, а потім проводили центрифугування для видалення преципітованого матеріалу. Зразки аналізували з використанням градієнта, описаного в розділі «Основні матеріали і способи UPLC». Стандартну криву для дантролену будували для кожного експерименту шляхом розчинення 3,8 мг дантріуму в 14,9 мл 50% метанолі (об./об.) у воді.

35 Дантріум розбавляли в супернатанті суміші преципітовані клітини крові щура:ацетонітрил 1:3 з отриманням зразків для стандартної кривої. Діапазон стандартної кривої становив від 5000 до 5 нг/мл. Моніторинг поглинання дантролену проводили при 385 нм з використанням детектора на діодній матриці і функціональності моніторингу множинних реакцій мас-спектрометра.

Зворотне конвертування сполуки 2а в плазмі і фармакокінетика

40 Для визначення конвертування сполуки 2а в дантролену в плазму щура 1 мг сполуки 2а розчиняли до 1 мг/мл у воді. Аліквоту об'ємом 100 мкл сполуки 2а комбінували з 900 мкл плазми, взятої від щурів Sprague Dawley. Потім реакційну суміш з плазмою вміщували на водяну баню при 37°C. Первинна концентрація сполуки 2а в плазмі становила 100 мкг/мл. Первинний зразок отримували, відразу витягуючи 100 мкл з реакційної суміші з плазмою і

45 перемішуючи їх зі 100 мкл ацетонітрилу для гасіння реакції, що викликало преципітацію. Нерозчинний матеріал осаджували центрифугуванням при 15000 об./хв. протягом 5 хвилин при 25°C. Зразок для аналізу LC-MS отримували шляхом комбінування 75 мкл супернатанту з 75 мкл води. Аналіз LC-MS проводили шляхом ін'єктування 10 мкл і зразки елюювали з використанням обладнання і градієнта, описаних в розділі «Основні матеріали і способи

50 UPLC». Додаткові зразки отримували через 10, 30, 45, 60, 120, 180 і 240 хвилин. Втрату сполуки, що тестується, і збільшення рівня дантролену кількісно визначали шляхом інтеграції вручну піків на хроматограмах для 385 нм (фіг. 5). Час напівжиття сполуки 2а в цих умовах отримували шляхом апроксимації експонентної функції до цих даних. Час напівжиття сполуки 2а становив 82 хвилини. Також отримували негативний контроль, де замість плазми щура

55 використовували фосфатно-сольовий буфер, і не спостерігали конвертування.

Фармакокінетику дантролену в плазмі після введення сполуки 2а живим щурам аналізували за допомогою введення щурам Sprague-Dawley з канюльованими венами і аналізу плазми на дантролен з використанням LC-MS (фіг. 6 і таблиця 1). Дозування, взяття зразків і аналіз проводилися MPI Research. Внутрішньовенні дози вводили через канюлю в яремній вені.

60 Внутрішньом'язові дози вводили шляхом ін'єкції половини дози у велику м'язову масу лівої

задньої кінцівки, а іншу половину дози вводили в праву задню кінцівку. У кожній групі, що досліджується, було п'ять щурів. Сполуку 2а розчиняли до 8 мг/мл в підданому стерилізації фільтруванням 5% маніті (мас./об.) з отриманням рівня дози 7,5 мг/кг і об'єму дози 0,94 мл/кг. Збирання плазми проводили до введення і через 0,033, 0,083, 0,167 і 0,33, 0,66, 1, 2, 3, 6, 9 годин після введення.

У кожному експерименті спостерігали тільки слідові кількості 2а після введення за допомогою в/в, в/м або п/ш шляхів. Отже, для визначення фармакокінетики відстежували тільки концентрацію дантролену.

Таблиця 1

Біодоступність дантролену в плазмі після введення сполуки 2а внутрішньовенним і внутрішньом'язовим шляхами

Шлях введення	AUC (нг*год./мл)	AUC (мкг*год./мл)	% біодоступність
в/в	52148	5,2148	100
в/м	40565	4,0565	77,8

У другому аналізі проводили аналіз фармакокінетики сполуки 2 в цільній крові живих щурів (фіг. 7 і таблицю 2). Кожна група, що досліджується, включала трьох щурів. Сполуку 2а розчиняли до 8 мг/мл підданому стерилізації фільтруванням 5% маніті (мас./об.) з отриманням рівня дози 7,5 мг/кг і об'єму дози 0,94 мл/кг. Взяття крові проводили до введення, через 0,033, 0,083, 0,167 і 0,33, 0,66, 1, 2, 3, 6, 9 годин після введення. Зразки цільної крові розбавляли в 4 рази в ацетонітрилі і центрифугували для видалення преципітату.

Таблиця 2

Біодоступність дантролену в цільній крові після введення сполуки 2а внутрішньовенним і внутрішньом'язовим шляхами

Шлях введення	AUC (нг*год./мл)	AUC (мкг*год./мл)	% Біодоступність
в/в	47528	4,7528	100
в/м	45297	4,5297	95,3

Проводили інший фармакокінетичний аналіз сполуки 2а у живих щурів (фіг. 8 і 9, таблиці 3). Кожна група, що досліджується, включала п'ять щурів. Сполуку 2а розчиняли до 8 мг/мл в підданому стерилізації фільтруванням 5% водному розчині маніту (мас./об.) до рівня дози 7,5 мг/кг і об'єм дози 0,94 мл/кг. Взяття крові проводили до введення і через 0,033, 0,083, 0,167 і 0,33, 0,66, 1, 2, 3, 6, 9 годин після введення. Зразки крові розбавляли в 4 рази в ацетонітрилі і центрифугували для видалення преципітату. Зразки плазми отримували шляхом віщення крові в пробірці K2EDTA, а потім центрифугування. Потім отриману плазму аспірували і розбавляли в 4 рази в ацетонітрилі перед іншим раундом центрифугування для видалення преципітованого матеріалу.

Таблиця 3

Біодоступність дантролену після введення сполуки 2а внутрішньовенним, внутрішньом'язовим і підшкірним шляхами

Шлях введення	AUC (нг*год./мл)	AUC (мкг*год./мл)	% Біодоступність
в/в ^а	41906	4,1906	100
в/м ^а	33861	3,3861	80,8
п/ш ^а	26388	2,6388	64,0
в/в ^б	40298	4,0298	100
в/м ^б	22857	2,2857	56,7
п/ш ^б	20019	2,0019	49,7

^а Аналіз цільної крові ^б Аналіз плазми

Зворотне конвертування сполуки 2b в плазмі і фармакокінетика
Для визначення конвертування сполуки 2b у дантролен в плазмі щура 1 мг сполуки 2b розчиняли до 1 мг/мл у воді. Аліквоту 100 мкл сполуки 2b комбінували з 900 мкл плазми, взятої від щурів Sprague Dawley. Потім реакційну суміш з плазмою вміщували на водяну баню при

37°C. Первинна концентрація сполуки 2b в плазмі становила 100 мкг/мл. Первинний зразок отримували, відразу витягуючи 100 мкл з реакційної суміші з плазмою і перемішуючи їх зі 100 мкл ацетонітрилу для гасіння реакції, що викликало преципітацію. Нерозчинний матеріал осаджували центрифугуванням при 15000 об./хв. протягом 5 хвилин при 25°C. Зразок для аналізу LC-MS отримували шляхом комбінування 75 мкл супернатанту з 75 мкл води. Аналіз LC-MS проводили шляхом інжектування 10 мкл і зразки елюювали з використанням обладнання і градієнта, описаних в розділі «Основні матеріали і способи UPLC». Додаткові зразки отримували через 15, 30, 45, 60, 120, 180 і 240 хвилин. Втрату сполуки 2 і збільшення рівня дантролену кількісно визначали шляхом інтеграції вручну піків на хроматограмах для 385 нм (фіг. 10). Час напівжиття сполуки 2b в цих умовах отримували шляхом апроксимації експонентної функції до цих даних. Час напівжиття сполуки 2b становив 77 хвилин. Також отримували негативний контроль, де замість плазми щура використовували фосфатно-сольовий буфер, і не спостерігали конвертування.

Фармакокінетику дантролену в плазмі після введення сполуки 2b живим щурам аналізували за допомогою введення щурам Sprague-Dawley з канюльованими венами і аналізу плазми на дантролен з використанням LC-MS (фіг. 11 і таблиця 4). Дозування, взяття зразків і аналіз проводилися MPI Research. Внутрішньовенні дози вводили через канюлю в яремній вені. Внутрішньом'язові дози вводили шляхом ін'єкції половини дози у велику м'язову масу лівої задньої кінцівки, а іншу половину дози вводили в праву задню кінцівку. У кожній групі, що досліджується, було п'ять щурів. Сполуку 2b розчиняли до 11,4 мг/мл в підданому стерилізації фільтруванням 5% маніті (мас./об.) з отриманням рівня дози 10,6 мг/кг і об'єму дози 0,94 мл/кг. Збирання плазми проводили до введення і через 0,033, 0,083, 0,167 і 0,33, 0,66, 1, 2, 3, 6, 9 годин після введення.

Таблиця 4

Біодоступність дантролену в плазмі після введення сполуки 2b внутрішньовенним і внутрішньом'язовим шляхами.

Шлях введення	AUC (нг*год./мл)	AUC (мкг *год./мл)	% Біодоступність
в/в	55748	5,5749	100
в/м	41947	4,1947	75,2

25

Приклад 18. Зворотне конвертування сполуки 10с в плазмі

Для визначення конвертування сполуки 10с у дантролен в плазмі щура 0,9 мг 10с розчиняли до 1 мг/мл у воді. Аліквоту 100 мкл сполуки 10с комбінували з плазмою, взятою від щурів Sprague Dawley. Потім реакційну суміш з плазмою вміщували на водяну баню при 37°C. Первинна концентрація сполуки 10с в плазмі становила 100 мкг/мл. Первинний зразок отримували, відразу витягуючи 100 мкл з реакційної суміші з плазмою і перемішуючи їх зі 100 мкл ацетонітрилу для гасіння реакції, що викликало преципітацію. Нерозчинний матеріал осаджували центрифугуванням при 15000 об./хв. протягом 5 хвилин при 25°C. Зразок для аналізу LC-MS отримували шляхом комбінування 75 мкл супернатанту з 75 мкл води. Аналіз LC-MS проводили шляхом інжектування 10 мкл і зразки елюювали з використанням обладнання і градієнта, описаних в розділі «Основні матеріали і способи UPLC». Додаткові зразки отримували через 10, 20, 35, 45 і 60 хвилин. Втрату сполуки 10с і збільшення рівня дантролену кількісно визначали шляхом інтеграції вручну піків на хроматограмах для 385 нм. Протягом перших 10 хвилин інкубації з плазмою 10с повністю конвертувалася в дантролен. Оцінений час напівжиття становив 1,9 хв. Також отримували негативний контроль, де фосфатно-сольовий буфер використовували замість плазми щура, і спостерігали повільне конвертування в дантролен. Час напівжиття 10с в фосфатно-сольовому буфері становив 294 хвилини. Див. фіг. 12.

Приклад 19. Конвертування сполуки 12а в плазмі і фармакокінетика

Для визначення конвертування сполуки 12а у дантролен в плазмі щура отримували розчин 12а 1 мг/мл у воді. Аліквоту 100 мкл 12а комбінували з плазмою, взятою від щурів Sprague Dawley. Потім реакційну суміш з плазмою вміщували на водяну баню при 37°C. Первинна концентрація сполуки 12а в плазмі становила 100 мкг/мл. Первинний зразок отримували, відразу витягуючи 100 мкл з реакційної суміші з плазмою і перемішуючи їх зі 100 мкл ацетонітрилу для гасіння реакції, що викликало преципітацію. Нерозчинний матеріал осаджували центрифугуванням при 15000 об./хв. протягом 5 хвилин при 25°C. Зразок для аналізу LC-MS отримували шляхом комбінування 75 мкл супернатанту з 75 мкл води. Аналіз LC-MS проводили шляхом інжектування 10 мкл і зразки елюювали з використанням

50

обладнання і градієнта, описаних в розділі «Основні матеріали і способи UPLC». Додаткові зразки отримували через 10, 20, 35, 45, 60, 75 і 150 хвилин. Втрату сполуки 12a і збільшення рівня дантролену кількісно визначали шляхом інтеграції вручну піків на хроматограмах для 385 нм (фіг. 13). Час напівжиття 12a в цих умовах отримували шляхом апроксимації експонентної функції до даних. Обчислений час напівжиття становив 12,2 хв. Для негативного контролю, де фосфатно-сольовий буфер використовували замість плазми щура, час напівжиття становив більше 150 хвилин.

Фармакокінетичні властивості 12a аналізували аналогічно тому, як і для 22c, за винятком того, що сполуку розчиняли до 5 мг/мл в 5% маніті з отриманням рівня дози 4 мг/кг і об'єму дози 0,8 мл/кг (фіг. 14).

Приклад 20. Конвертування сполуки 17b в плазмі

Для побудови стандартної кривої для обчислення концентрації 17b 1 мг сполуки розчиняли в 200 мкл диметилформаміду з отриманням розчину 5 мг/мл. Розчин 5 мг/мл розбавляли в 5 разів у воді, а потім центрифугували при 15000 об./хв., 25°C, 5 хв. Супернатант використовували для отримання 10-кратного розбавлення в 25% ацетонітрилі у воді з отриманням розчину 100 мкг/мл. Проводили серію 2-кратного розбавлення з використанням 25% ацетонітрилу з отриманням розчинів 50, 25, 12,5 і 6,25 мкг/мл. Ці розчини аналізували, як описано в розділі «Основні матеріали і способи UPLC» за винятком того, що градієнт продовжували до кінця з 90% ацетонітрилом через 14,4 хвилини.

Для визначення конвертування 17b у дантролен в плазмі щура отримували розчин 17b 1 мг/мл у воді. Аліквоту 100 мкл 17b комбінували з 900 мкл плазми, взятої від щурів Sprague Dawley. Потім реакційну суміш з плазмою вміщували на водяну баню при 37°C. Первинна концентрація сполуки 17b в плазмі становила 100 мкг/мл. Первинний зразок отримували, відразу витягуючи 100 мкл з реакційної суміші з плазмою і перемішуючи їх зі 100 мкл ацетонітрилу для гасіння реакції, що викликало преципітацію. Нерозчинний матеріал осаджували центрифугуванням при 15000 об./хв. протягом 5 хвилин при 25°C. Зразок для аналізу LC-MS отримували шляхом комбінування 75 мкл супернатанту з 75 мкл води. Аналіз LC-MS проводили шляхом інжектування 10 мкл і зразки елюювали з використанням обладнання і градієнта, описаних в розділі «Основні матеріали і способи UPLC». Додаткові зразки отримували через 15, 30, 45, 60, 180, 240 і 300 хвилин. Втрату сполуки 17b і збільшення рівня дантролену кількісно визначали шляхом інтеграції вручну піків на хроматограмах для 385 нм (фіг. 15). Час напівжиття 17b в цих умовах отримували шляхом апроксимації експонентної функції до даних. Обчислений час напівжиття становив 94,5 хв. Для негативного контролю, де фосфатно-сольовий буфер використовували замість плазми щура, час напівжиття становив більше 447 хвилин.

Приклад 21. Конвертування сполуки 22c в плазмі і фармакокінетика

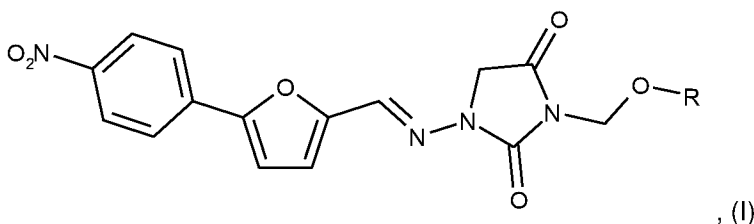
Для визначення конвертування 22c у дантролен в плазмі щура отримували розчин 22c 1 мг/мл у воді. Аліквоту 100 мкл 22c комбінували з 900 мкл плазми, взятої від щурів Sprague Dawley. Потім реакційну суміш з плазмою вміщували на водяну баню при 37°C. Первинна концентрація сполуки 22c в плазмі становила 100 мкг/мл. Первинний зразок отримували, відразу витягуючи 100 мкл з реакційної суміші з плазмою і перемішуючи їх зі 100 мкл ацетонітрилу для гасіння реакції, що викликало преципітацію. Нерозчинний матеріал осаджували центрифугуванням при 15000 об./хв. протягом 5 хвилин при 25°C. Зразок для аналізу LC-MS отримували шляхом комбінування 75 мкл супернатанту з 75 мкл води. Аналіз LC-MS проводили шляхом інжектування 10 мкл і зразки елюювали з використанням обладнання і градієнта, описаних в розділі «Основні матеріали і способи UPLC». Додаткові зразки отримували через 10, 20, 35, 45, 60, 75 і 150 хвилин. Втрату сполуки 22c і збільшення рівня дантролену кількісно визначали шляхом інтеграції вручну піків на хроматограмах для 385 нм (фіг. 16). Час напівжиття 22c в цих умовах отримували шляхом апроксимації експонентної функції до даних. Протягом перших 10 хвилин інкубації з плазмою 22c повністю конвертувалася в дантролен. Оцінений час напівжиття становив 3,2 хв. Також проводили випробування негативного контролю, де фосфатно-сольовий буфер використовували замість плазми щура, і спостерігали 85% зворотне конвертування через 150 хвилин.

Фармакокінетику 22c у живих щурів аналізували за допомогою дозування щурам Sprague-Dawley з канюлей у вені і аналізу крові відносно дантролену з використанням LC-MS (фіг. 17). Внутрішньовенні дози вводили через канюлю в яремній вені. Підшкірні дози вводили за допомогою ін'єкції між шкірою і шарами тканини, які лежать нижче, в лівій задній кінцівці кожної тварини. Внутрішньом'язові дози вводили шляхом ін'єкції половини дози у велику м'язову масу лівої задньої кінцівки, а іншої половини дози в праву задню кінцівку. У кожній групі, що досліджується, було три щури. 22c розчиняли до 3 мг/мл підданому стерилізації фільтруванням

5% водному розчині маніту (мас./об.) з 10% DMSO з отриманням рівня дози 4 мг/кг і об'єму дози 1,33 мл/кг. Взяття крові проводили до введення і через 0,167, 0,33, 0,66 і 1,33 годин після введення. У кожний момент часу проводили взяття 100 мкл крові у флакон, в який було вміщено 300 мкл ацетонітрилу. Зразки крові центрифугували для осадження якого-небудь нерозчинного матеріалу. Супернатанти швидко заморожували і зберігали на сухому льоду. Зразки аналізували з використанням способів, описаних в розділах «Основні матеріали і способи UPLC» і «Фармакокінетичний аналіз».

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Сполука формули I:



де R являє собою

-P(O)(OH)₂ або -P(O)(OR₁)(OR₂);

R₁ являє собою H, -C₁₋₂₆алкіл, арил, C₁₋₆алкC(O)O-C₁₋₂₆алкіл, -C₁алкOC(O)C₁₋₂₆алкіл або C₁алкOC(O)OC₁₋₂₆алкіл; і

R₂ являє собою -C₁₋₂₆алкіл, арил, C₁₋₆алкC(O)O-C₁₋₂₆алкіл, -C₁алкOC(O)C₁₋₂₆алкіл або C₁алкOC(O)OC₁₋₂₆алкіл;

або її фармацевтично прийнятна сіль.

2. Сполука за п. 1, де R являє собою -P(O)(OH)₂.

3. Сполука за п. 1, де R являє собою P(O)(OR₁)(OR₂).

4. Сполука за п. 3, де R₁ являє собою H.

5. Сполука за п. 3, де R₁ являє собою -C₁₋₂₆алкіл.

6. Сполука за п. 3, де R₁ являє собою арил.

7. Сполука за п. 3, де R₁ являє собою C₁₋₆алкC(O)O-C₁₋₂₆алкіл.

8. Сполука за п. 3, де R₁ являє собою -C₁алкOC(O)C₁₋₂₆алкіл.

9. Сполука за п. 3, де R₁ являє собою C₁алкOC(O)OC₁₋₂₆алкіл.

10. Сполука за будь-яким із пп. 4-9, де R₂ являє собою -C₁₋₂₆алкіл, арил.

11. Сполука за будь-яким із пп. 4-9, де R₂ являє собою C₁₋₆алкC(O)O-C₁₋₂₆алкіл.

12. Сполука за будь-яким із пп. 4-9, де R₂ являє собою -C₁алкOC(O)C₁₋₂₆алкіл.

13. Сполука за будь-яким із пп. 4-9, де R₂ являє собою C₁алкOC(O)OC₁₋₂₆алкіл.

14. Сполука за будь-яким із попередніх пунктів у формі фармацевтично прийнятної солі.

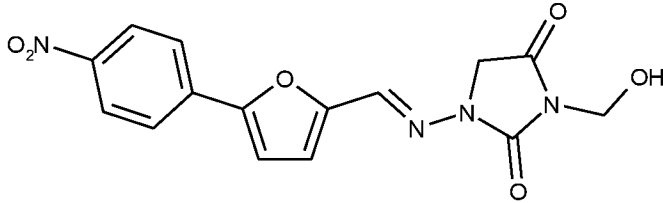
15. Фармацевтична композиція, яка містить сполуку за будь-яким із попередніх пунктів або її фармацевтичну сіль і фармацевтично прийнятний ексципієнт.

16. Спосіб лікування порушення, яке відповідає на дантролен, у індивідуума, який включає введення індивідууму терапевтично ефективної кількості сполуки за будь-яким із пп. 1-13 або її фармацевтично прийнятної солі.

17. Спосіб за п. 16, де порушення являє собою злякисну гіпертермію, хронічну спастичність, тепловий удар внаслідок виснажливого фізичного навантаження, аритмії серця, тахікардії, фібриляцію передсердь, зупинку серця, інфаркт міокарда, серцеву недостатність, пошкодження міокарда, кардіоміопатію, хворобу центральних волокон, бічний аміотрофічний склероз, рабдоміоліз, м'язову дистрофію Дюшенна, атаксію, гіперактивність детрузора, гіперактивний сечовий міхур, судоми, епілепсію, нейролептичний злякисний синдром, стрес-реакцію людини, хворобу Альцгеймера, хворобу Гентінгтона, розсіяний склероз, хворобу Паркінсона, пошкодження при ішемії-реперфузії, нейрональне пошкодження при реперфузії, гіпоксію, аневризму головного мозку, субарахноїдальний крововилив, інсульт, гіпертермію, асоційовану зі зловживанням наркотиків, або гіпертермію, асоційовану з передозуванням наркотиків, вплив нервово-паралітичної речовини, вплив нервово-паралітичного газу або накопичення ацетилхоліну.

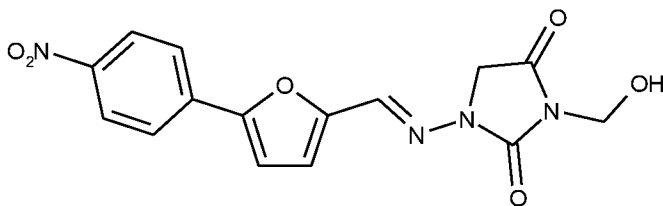
18. Спосіб за п. 16 або 17, де введення являє собою внутрішньовенне введення.

19. Спосіб за п. 16 або 17, де введення являє собою внутрішньом'язове введення.
 20. Спосіб за п. 16 або 17, де введення являє собою пероральне введення.
 21. Спосіб за п. 16 або 17, де введення є підшкірним.
 22. Спосіб за п. 16 або 17, де введення є інтраназальним.
 5 23. Спосіб за п. 16 або 17, де введення є внутрішньокістковим.
 24. Сполука формули II-A

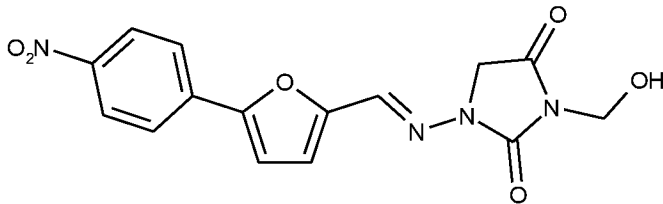


II-A

- 10 або її фармацевтично прийнятна сіль.
 25. Сполука за п. 24, де сполука формули II-A являє собою

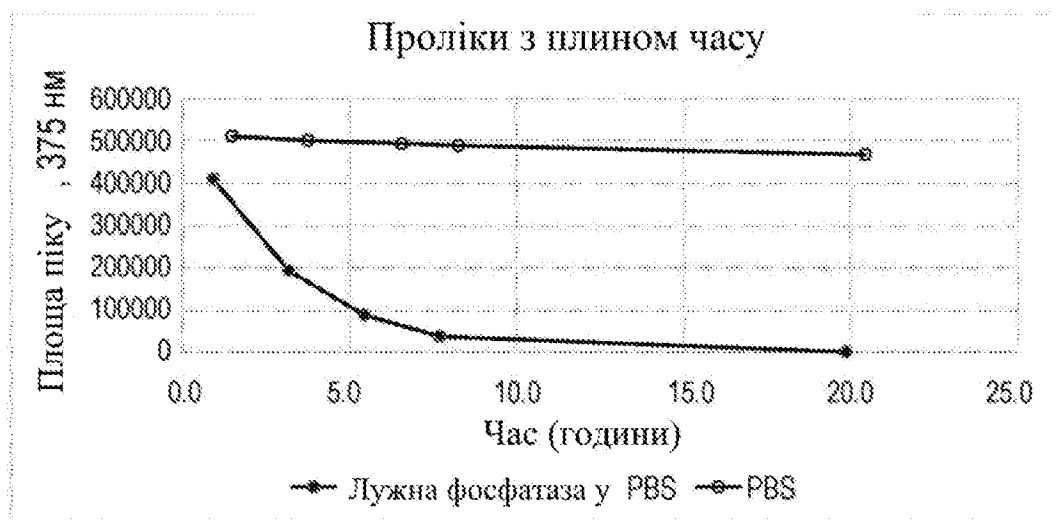


- 15 26. Застосування сполуки формули II-A

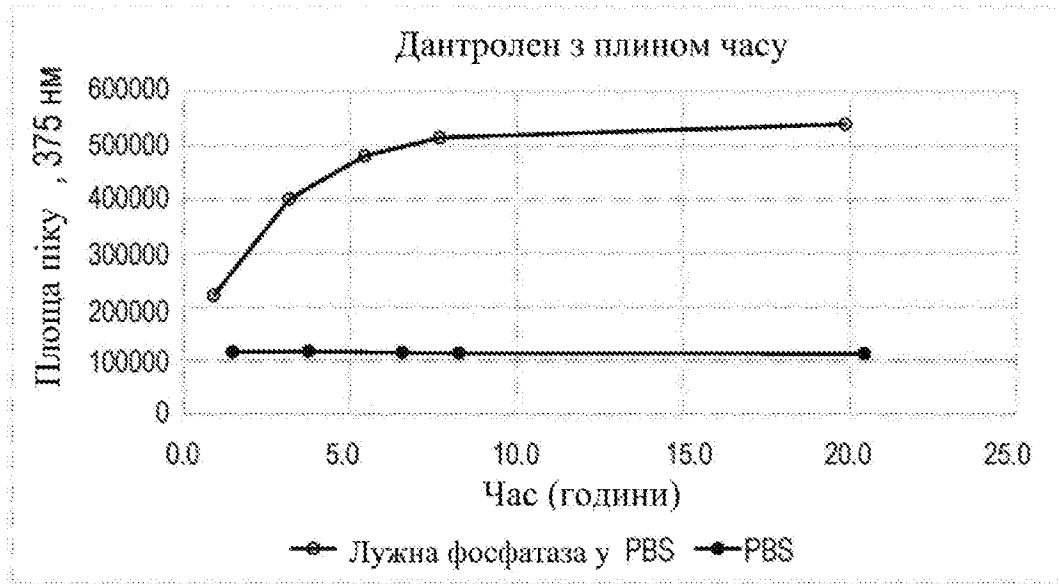


II-A

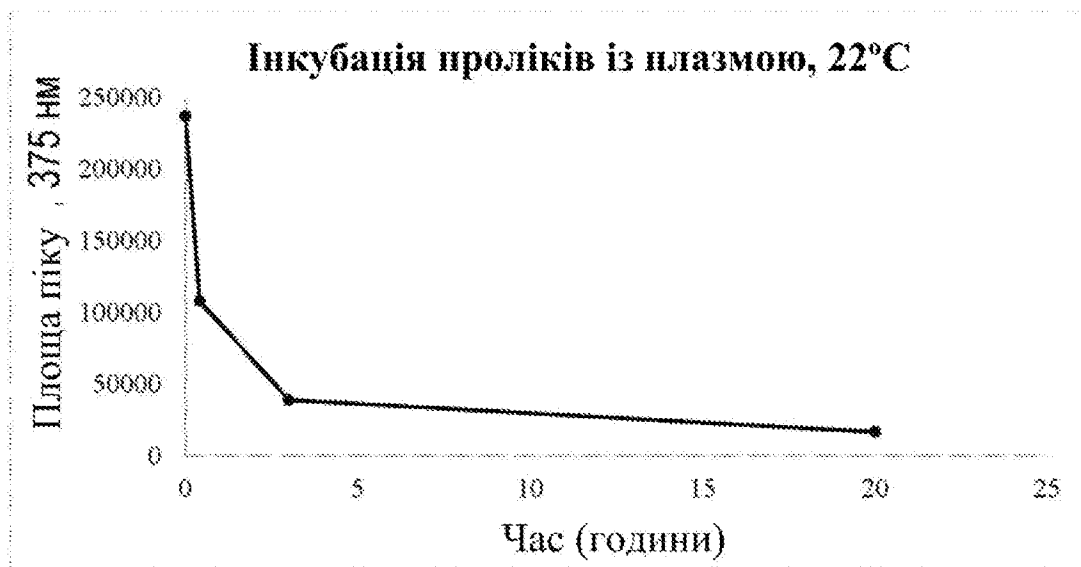
для лікування порушення, яке відповідає на дантролен.



Фіг. 1

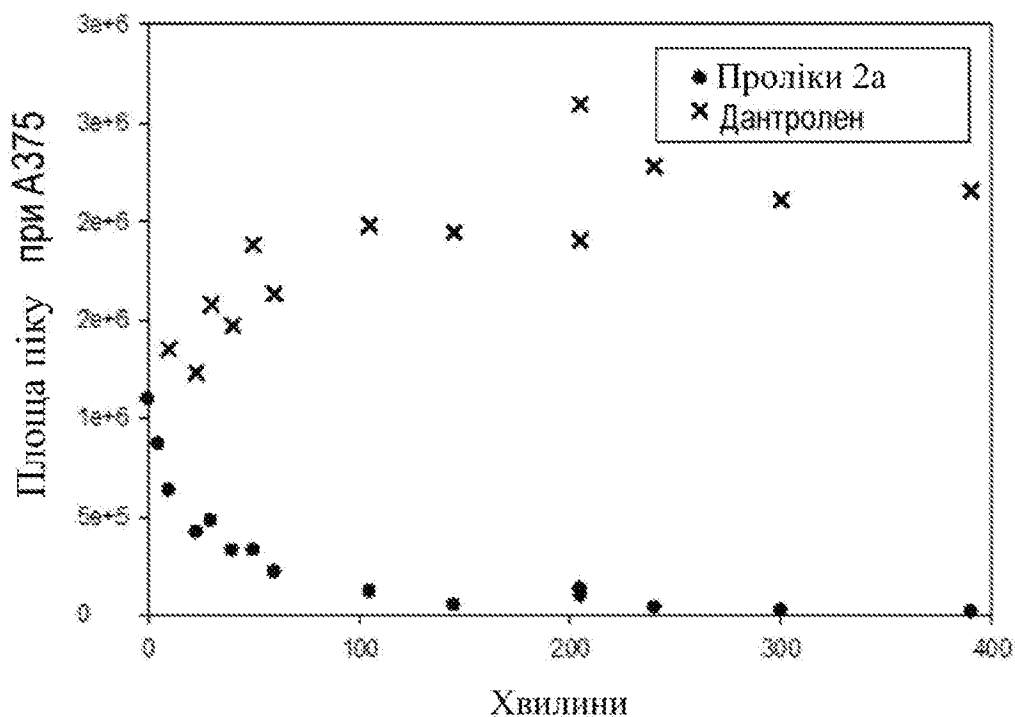


Фіг. 2

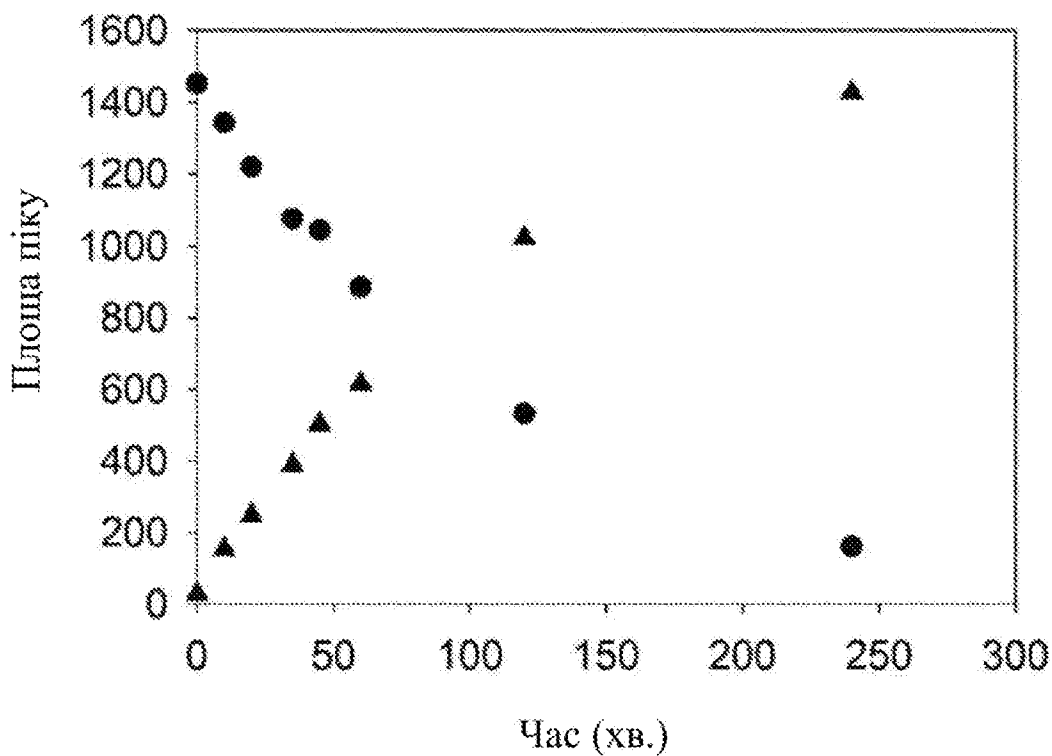


Фіг. 3

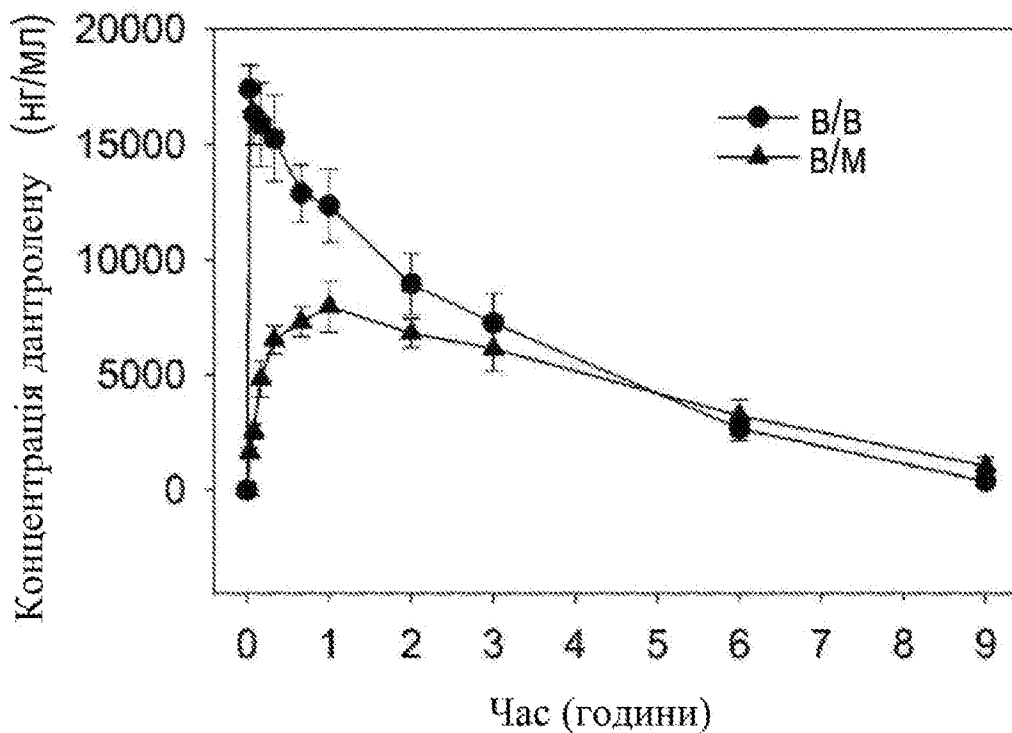
Конвертування проліків у плазмі щура при 37°C



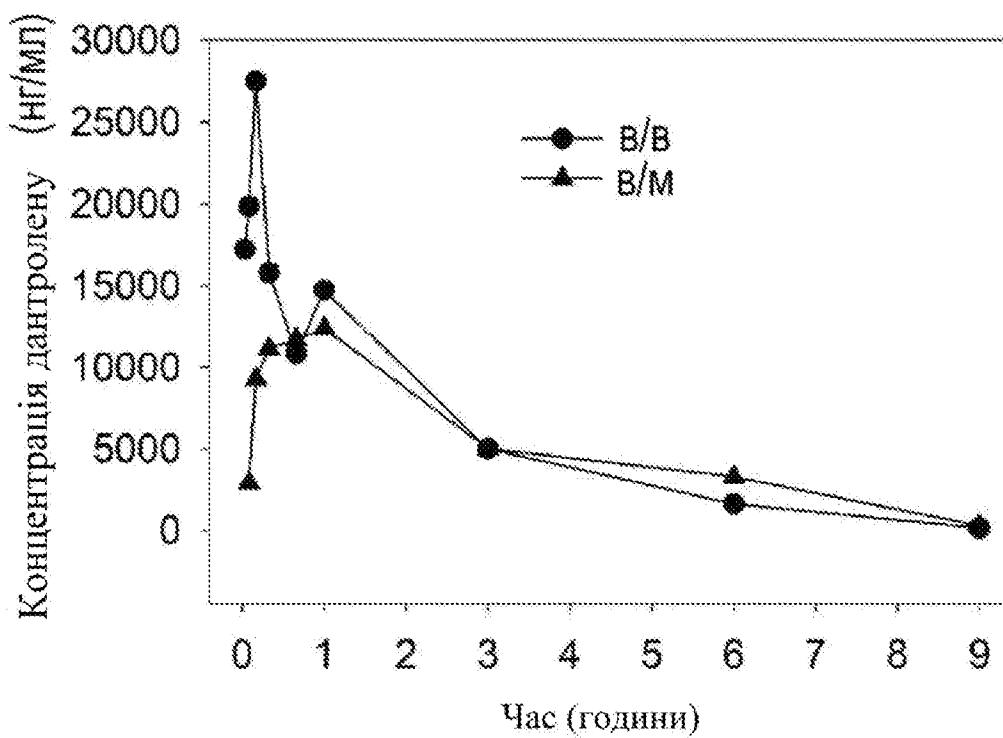
Фиг. 4



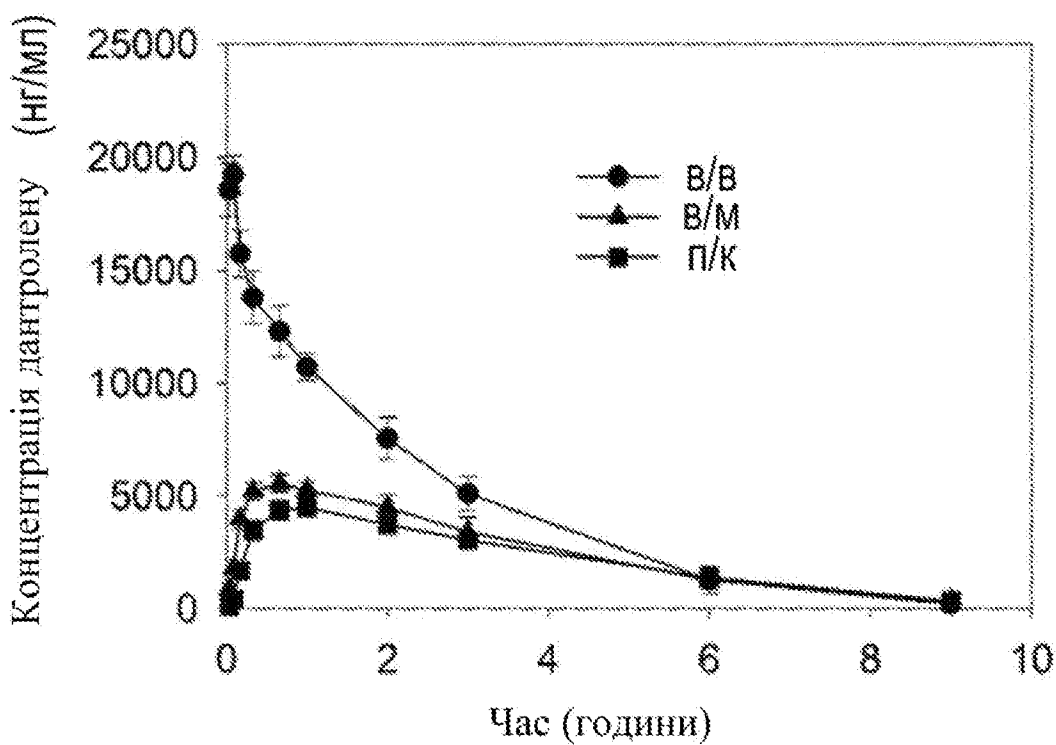
Фиг. 5



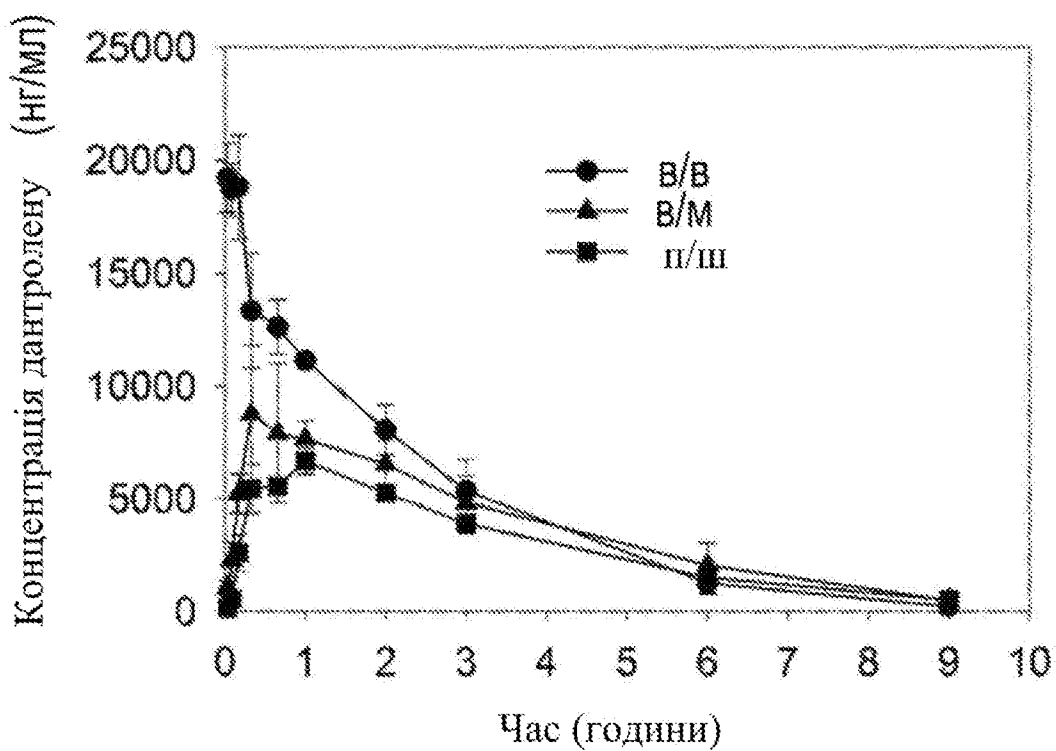
Фиг. 6



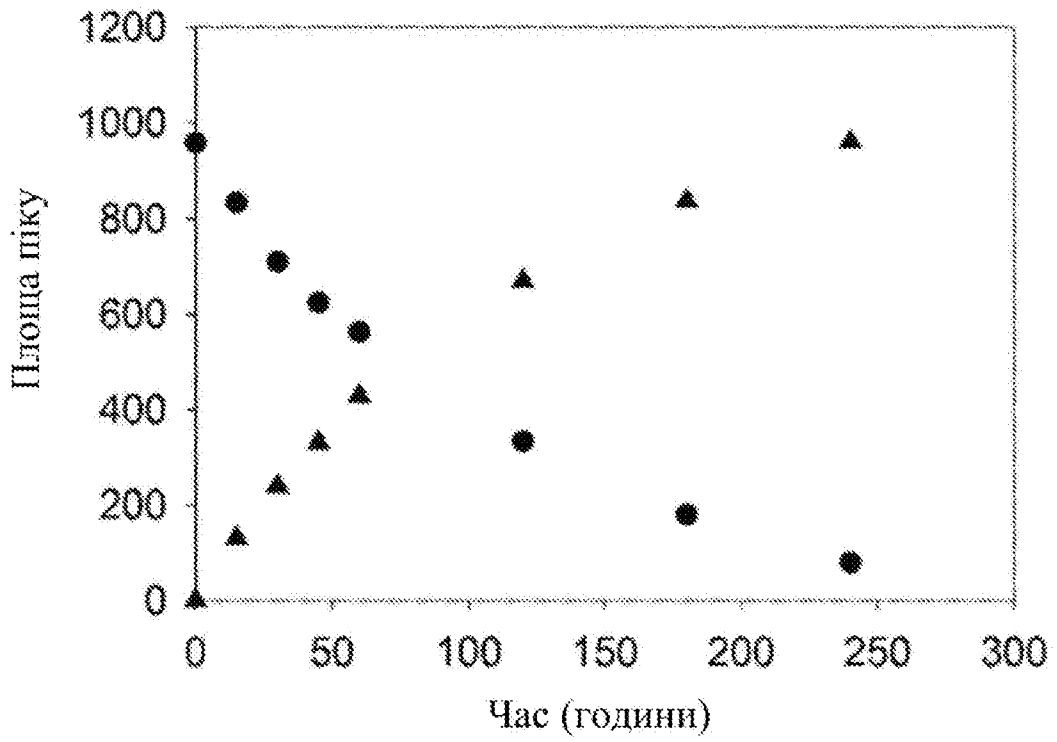
Фиг. 7



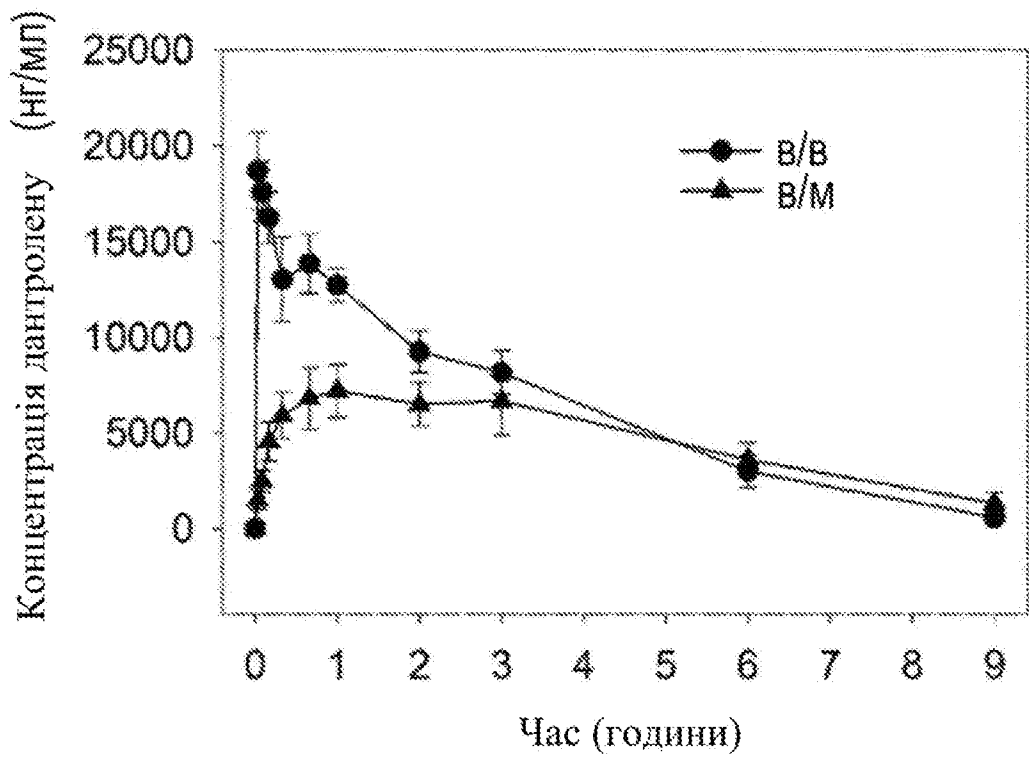
Фіг. 8



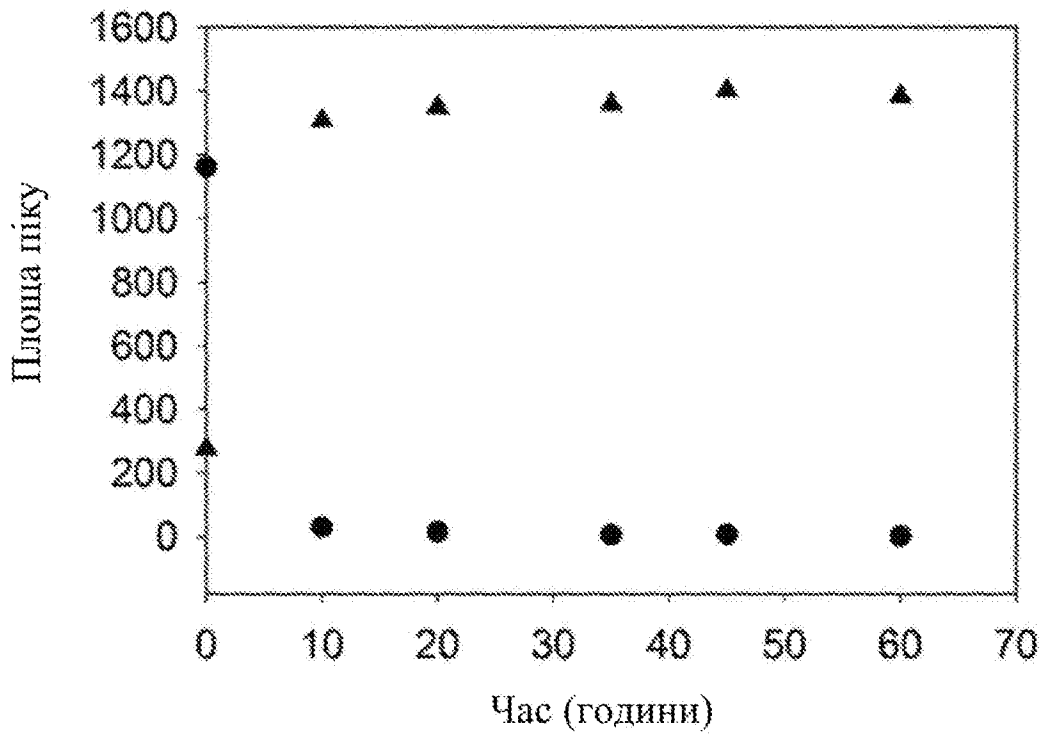
Фіг. 9



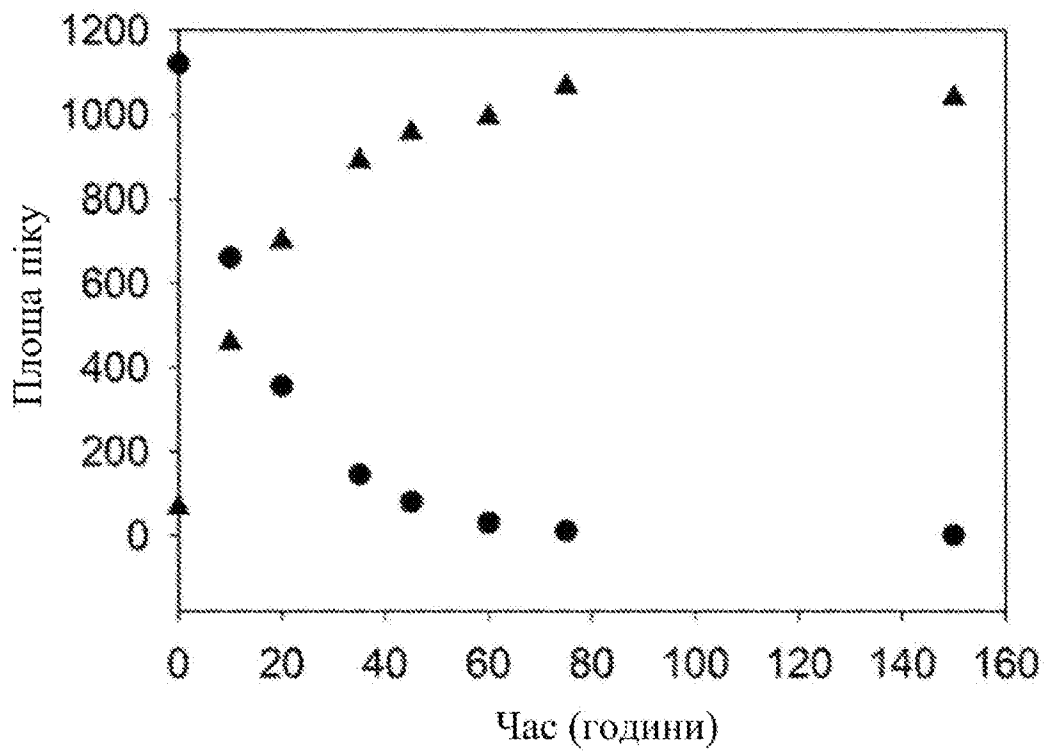
Фіг. 10



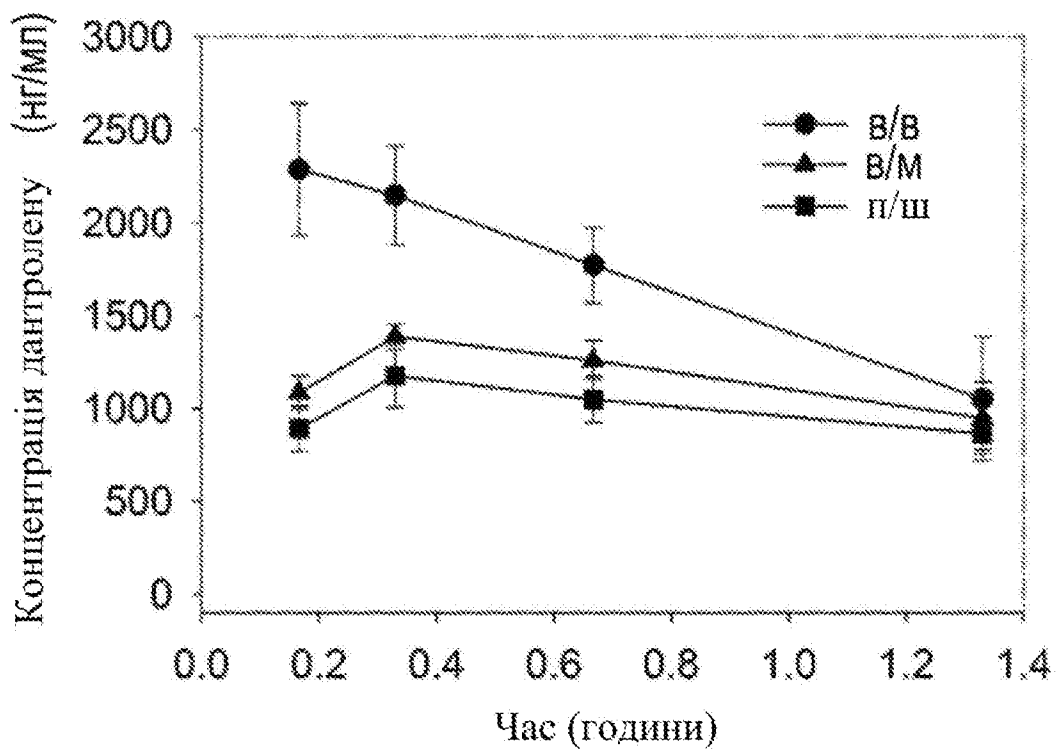
Фіг. 11



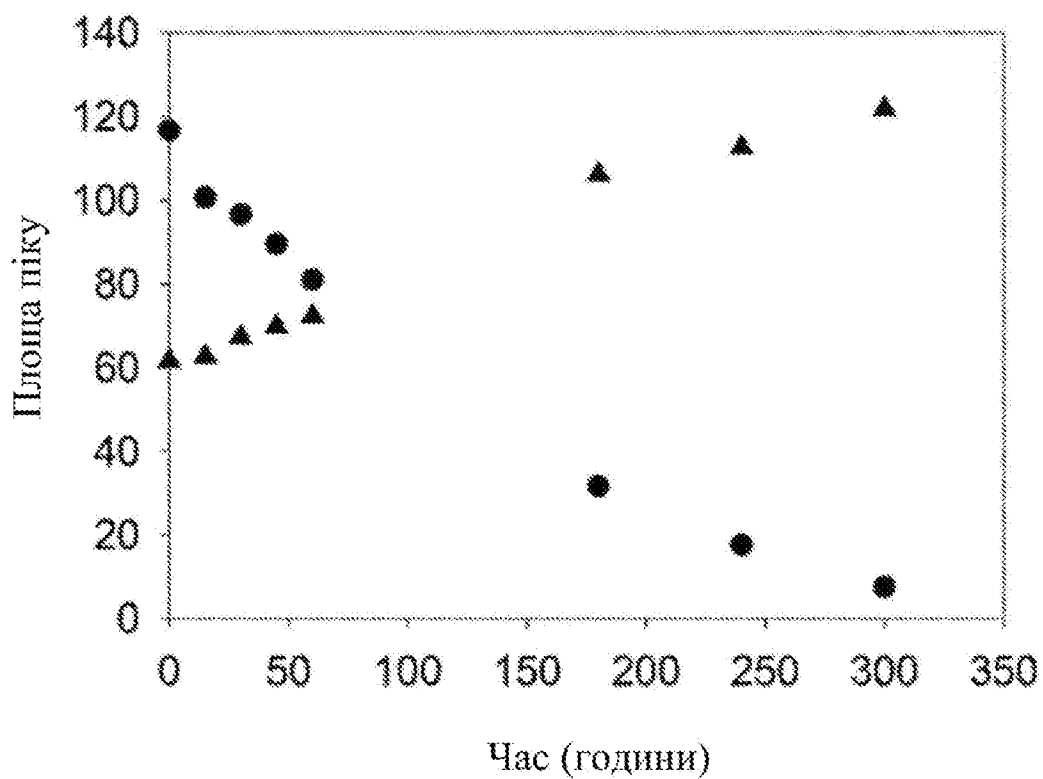
Фіг. 12



Фіг. 13



Фіг. 14



Фіг. 15

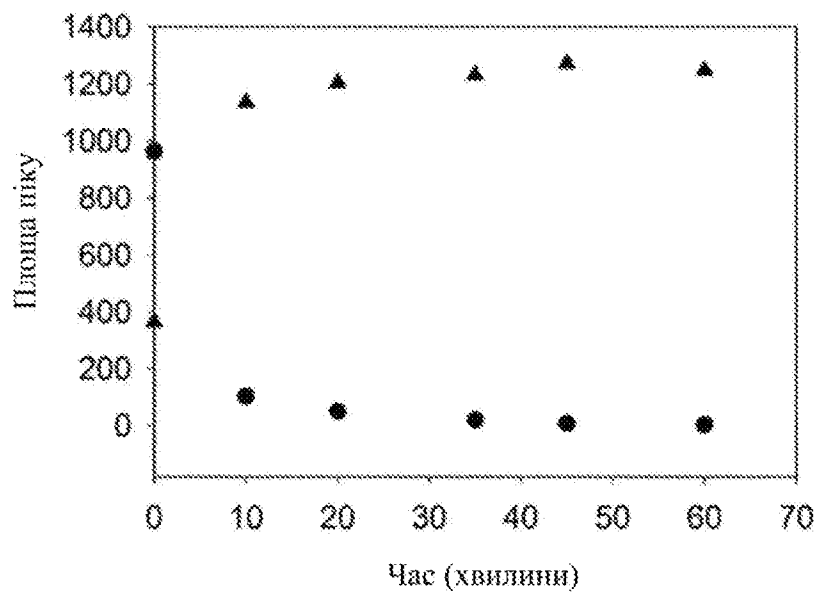


Fig. 16

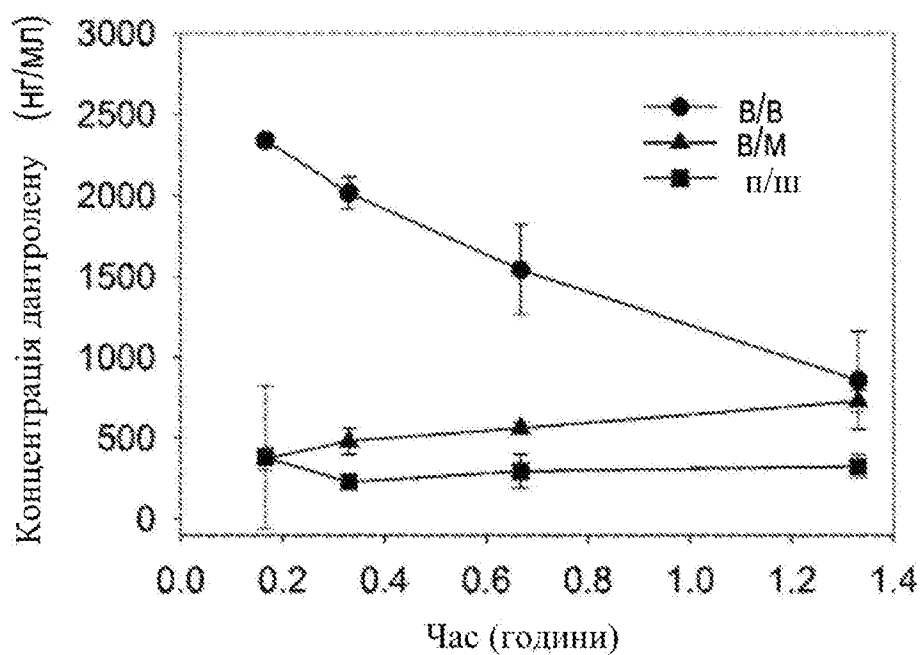


Fig. 17